



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología

**Evaluación de la seroprevalencia y estado de infección
por *Toxoplasma gondii* en gatos de Lima Metropolitana**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Biólogo Microbiólogo
Parasitólogo

AUTOR

Gabriel Angel SOTO SOTO

ASESOR

Dr. Juan Atilio JIMÉNEZ CHUNGA

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Soto, G. (2019). *Evaluación de la seroprevalencia y estado de infección por Toxoplasma gondii en gatos de Lima Metropolitana*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.



Universidad Nacional Mayor De San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO MICROBIÓLOGO PARASITÓLOGO
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN DE TESIS)**

Siendo las 11:10... horas del 12 de abril de 2019, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del jurado formado por los profesores que suscriben, se dio inicio a la sesión para optar al **Título Profesional de Biólogo Microbiólogo Parasitólogo** de **GABRIEL ANGEL SOTO SOTO**.


Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° 002-EPMP-2018, el titulando expuso su tesis: **"EVALUACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA Y ESTADO DE INFECCIÓN POR *Toxoplasma gondii* EN GATOS DE LIMA METROPOLITANA"** y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 14... calificativo: Aprobado con máximas honores.


Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología, y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el **Título Profesional de Biólogo Microbiólogo Parasitólogo** a **GABRIEL ANGEL SOTO SOTO** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

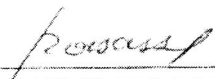
Siendo las 12:30... horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 12 de abril de 2019.


Mg. RUTH GARCIA DE LA GUARDA
(PRESIDENTA)


Dr. JUAN JIMENEZ CHUNGA
(ASESOR)


Mg. DEBORA ALVARADO IPARRAGUIRRE
(MIEMBRO)


Blga. JEANNE ALBA LUNA
(MIEMBRO)

DEDICATORIA

A César, mi padre, quien me hizo amar el maravilloso mundo de los microorganismos, y que aun después de su partida, su memoria me recuerda que amando lo que uno hace, el conocimiento puede llenar de felicidad. A Nancy, mi madre, quien puso el peso de la familia sobre sus hombros cuando mi padre partió a la presencia de Dios y creyó en lo que su hijo podía llegar a ser, incluso más que yo. A Felicina, mi abuela y segunda madre, sinónimo de comprensión y amor. Y a Dios, que me entregó padres tan buenos que no merecía y me dio las fuerzas para seguir adelante, aun en los momentos más difíciles.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Juan Jiménez Chunga por su invaluable apoyo, comprensión, preocupación y asesoría antes y durante la ejecución de este trabajo.

A la Dra. Maritza Calderón y al equipo del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, quienes estuvieron siempre compartiendo sus conocimientos y apoyándome en el desarrollo del presente trabajo.

A los médicos veterinarios Camila Sánchez-Carrión y Almendra Sánchez-Carrión de Gatuari, Fernando Maita de la Veterinaria del Norte, Aníbal Ortiz de la Veterinaria del Río y a cada uno de los miembros que componen estos centros veterinarios, por su espíritu colaborativo, desinteresado y presto para apoyar la presente investigación.

A la Dra. Libertad Alzamora y al Mg. Erasmo Colona del Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas (UNMSM) por permitirme el uso de los equipos necesarios para este trabajo, así como su disposición de tiempo. De la misma manera, a la Mg. Julia Castro por el espacio brindado para el desarrollo de las pruebas serológicas.

A mi madre, abuela y mis hermanos Miguel, Ana y Noemí “Mimi”, por su amor incondicional durante cada etapa de mi vida y por darme las fuerzas para enfrentar las situaciones adversas, así como celebrar conmigo los buenos momentos.

A Christian Dávila y Eleonora Cordova, quienes me tendieron su mano no solo como grandes amigos sino también como colegas, al aconsejar, opinar, sugerir y apoyarme durante la ejecución de la presente tesis. Así como ellos, personas valiosas que también me acompañaron estos años fueron Sebastian Philipps, Hammerly Lino, Wendy Lizárraga, Patrick González, Luis Ocrosopoma, Julio Villegas, Cristina Montoya, Raúl Ynocente y Franklin Sullca. Nombre por nombre, doy gracias a Dios por haberlos conocido.

Agradecer de igual manera al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado (VRIP) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por la Subvención Financiera de Investigación (SFEI) de la presente tesis, código B17100464a.

Por último, doy gracias a Dios, en quien me sigo apoyando, y por quien he logrado mis metas hasta ahora alcanzadas.

ABREVIATURAS

Abs: Absorbancia

ELISA: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

FeLV: Virus de la leucemia felina

FIV: Virus de inmunodeficiencia felina

HAI: Hemaglutinación indirecta

HRP: Peroxidasa de rábano

IFI: Inmunofluorescencia indirecta

IgG: Inmunoglobulina G

ISAGA: Test de Inmunoabsorción - Aglutinación

MAT: Test de aglutinación modificado

OR: *Odds ratio*

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

RFLP: Polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

T. gondii: *Toxoplasma gondii*

TMB: Tetrametilbenzidina

ÍNDICE

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 BIOLOGÍA DEL PARÁSITO <i>Toxoplasma gondii</i>	3
2.2 TOXOPLASMOSIS EN HUMANOS	6
2.3 TOXOPLASMOSIS EN ANIMALES	7
2.4 SITUACIÓN DE LA TOXOPLASMOSIS EN EL PERÚ.....	9
2.4.1. Toxoplasmosis en humanos	9
2.4.2. Toxoplasmosis en animales.....	11
2.5 PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	14
2.5.1. Microscopía e histopatología	14
2.5.2. Bioensayo.....	15
2.5.3. Serología	16
2.5.4. Biología molecular.....	19
2.6. ESTUDIOS DE LA INFECCIÓN POR <i>Toxoplasma gondii</i> EN GATOS	21
2.6.1. Relación hospedero-parásito en el gato doméstico (<i>Felis catus</i>)	21
2.6.2. Epidemiología mundial de <i>T. gondii</i> en el gato doméstico.....	22
2.6.3. Factores asociados a la infección por <i>T. gondii</i> en gatos domésticos.....	26
3. HIPÓTESIS.....	32
4. OBJETIVOS.....	33
5. MATERIAL Y MÉTODOS	34
5.1 Muestra biológica	34
5.2 Técnica de ELISA indirecto para la detección de anticuerpos IgG en gatos	35
5.3 Técnica de ELISA de avidéz de anticuerpos IgG en gatos.....	36
5.4. Análisis estadístico	37
5.5. Consideraciones éticas.....	38
6. RESULTADOS.....	39
6.1 ELISA indirecto IgG	39
6.2 ELISA de avidéz IgG.....	40
7. DISCUSIÓN	44
8. CONCLUSIONES	50
9. RECOMENDACIONES	51
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

11. ANEXO.....	68
Anexo 1: Ficha de investigación epidemiológica.....	68
Anexo 2: Constancia de aprobación por el Comité de Ética.....	69
Anexo 3: Proceso de ejecución	70

RESUMEN

La toxoplasmosis es una zoonosis que afecta a una gran variedad de animales, incluyendo al hombre. La ingesta de ooquistes excretados por el hospedero definitivo, el gato, constituye una vía de transmisión importante. El objetivo del presente estudio fue evaluar la seroprevalencia y el estado de infección por *Toxoplasma gondii* en gatos domésticos de Lima Metropolitana (Perú) y la relación que guardan con el tipo de crianza del animal como posibles factores de riesgo. Se colectaron 118 muestras de suero, de las cuales 112 pertenecían a gatos de 22 diferentes distritos de la capital peruana atendidos en clínicas veterinarias y 6 provenientes de un albergue situado en el distrito de Cieneguilla. Se determinó la frecuencia de anticuerpos IgG y el estado de infección mediante las técnicas de ELISA y ELISA de avidéz, respectivamente. Los factores de riesgo analizados fueron los siguientes: sexo, grupo etario, raza (pura, mestiza), alimentación (comercial, mixta), acceso a la calle y hábitos de caza. Se detectaron anticuerpos IgG anti *T. gondii* en 29 de 118 gatos (24.6%), los que a su vez evidenciaron una alta avidéz (29/29), correspondiendo a infecciones tardías. Se encontró asociación significativa ($p < 0.05$) en los factores edad ($p = 0.02$), alimentación ($p = 0.04$), acceso a la calle ($p = 0.02$) y hábitos de caza ($p = 0.05$). Los factores sexo y raza no mostraron asociación significativa. La frecuencia y *Odds ratio* de seropositivos aumentó en gatos de alimentación mixta (38.2%, OR=2.63), con acceso a la calle (41.9%, OR=3.56), cazadores (31.6%, OR=1.96) y mayores de un año (30.5%, OR=3.51), donde dentro esta categoría, la más alta prevalencia se encontró en mayores de siete años (8/18, 44.4%). Se reporta un aumento de la seroprevalencia de *T. gondii* en gatos en comparación a estudios previos en Lima, asociada a sus hábitos de crianza. Asimismo, la prueba de ELISA resulta una herramienta útil para este tipo de estudios, debiendo ser implementada en el Perú.

Palabras clave: *Toxoplasma gondii*, ELISA, seroprevalencia, factores de riesgo, Lima, Perú, gatos.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonosis that affects a wide variety of animals, including man. The ingestion of oocysts excreted by the definitive host, the cat, constitutes an important transmission route. The aim of this study was to evaluate the seroprevalence and its infection status for *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Metropolitan Lima (Peru) and the relationship they have with the type of breeding as possible risk factors. 118 serum samples were collected, of which 112 belonged to cats from 22 different districts of the capital of Peru attended in veterinary clinics and 6 from a shelter located in the district of Cieneguilla. The frequency of IgG antibodies and the status of the infection were determined by ELISA and avidity ELISA tests, respectively. The risk factors analyzed were the following: sex, age group, breed (pure, mixed), feeding (commercial, mixed), outdoor access and hunting habits. IgG antibodies against *T. gondii* were detected in 29 of 118 cats (24.6%), which in turn showed high avidity (29/29), which correspond to late infections. Significant association ($p < 0.05$) were found in the factors age ($p = 0.02$), feeding ($p = 0.04$), outdoor access ($p = 0.02$) and hunting habits ($p = 0.05$). Sex and breed did not show significant association. The frequency and Odds ratio (OR) of seropositive cats are increased in mixed feeding individuals (38.2%, OR = 2.63), with outdoor access (41.9%, OR = 3.56), hunters (31.6%, OR = 1.96) and older than one year (30.5%, OR = 3.51), where within this category, the highest prevalence was found in cats older than seven years old (8/18, 44.4%). These results show an increase in the seroprevalence of *T. gondii* associated with the breeding habits of domestic cats in Lima compared to previous studies. Furthermore, the ELISA test is an useful tool for this type of studies, and should be implemented in Peru.

Key words: *Toxoplasma gondii*, ELISA, seroprevalence, risk factors, Lima, Peru, cats.

1. INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria de distribución mundial causada por el protozoo *Toxoplasma gondii*, teniendo a los miembros de la familia Felidae como hospederos definitivos. En estos, por ende, se da el ciclo sexual del parásito, los cuales eliminan en sus heces ooquistes que se hacen infectivos en el ambiente (Dubey, 2010).

Dependiendo de la ubicación geográfica y factores socioeconómicos de la región, pueden llegarse a presentar seroprevalencias cercanas al 90% en gatos domésticos (Dubey, 2010), que evidencien el contacto con este agente infeccioso y, por lo tanto, la necesidad de establecer lineamientos de prevención.

Esta zoonosis puede afectar a una gran diversidad de animales homeotermos que cumplen el rol de hospederos intermediarios, entre ellos el hombre. En este tipo de hospederos, *T. gondii* forma quistes tisulares en diferentes tejidos del individuo, los cuales llegan a ser infectivos para otro huésped susceptible mediante el consumo de estos.

En el ser humano, si bien no se reportan muchos casos de complicaciones por *T. gondii* en individuos inmunocompetentes, esta infección puede cobrar especial importancia cuando se adquiere durante la gestación, dando lugar a severos cuadros clínicos en el feto; además en pacientes inmunocomprometidos la morbi-mortalidad es significativa (Elsheika, 2008; Robert-Gangeux y Dardé, 2012).

En el Perú se han realizado estudios enfocados principalmente en su impacto en humanos, así como animales de consumo que puedan infectar al hombre, donde se reporta su presencia y alta prevalencia en diferentes localidades del país. Sin embargo, son pocos los estudios realizados en el hospedero definitivo como diseminador del parásito *T. gondii* (Cerro *et al.* 2009; Castillo *et al.* 2012; Cerro *et al.* 2014).

En áreas urbanas como Lima, capital peruana, el único animal en donde se da el ciclo sexual del parásito es el gato doméstico. Este, debido a su cercanía con el ser humano y ser la segunda mascota más importante en preferencias en Lima Metropolitana (CPI, 2016), debe ser estudiado como pieza fundamental en la diseminación de *T. gondii*.

Para nuestro país existen únicamente tres reportes sobre la infección en gatos domiciliados, los cuales resaltan el rol que cumplen como agentes transmisores de la enfermedad en ambientes urbanos, además de la influencia de los hábitos de crianza en la infección, los cuales han reportado seroprevalencias que oscilan entre el 11 y 17.9% (Cerro *et al.* 2009; Castillo *et al.* 2012; Cerro *et al.* 2014) . Sin embargo, en estos estudios solamente se han empleado las técnicas de hemaglutinación indirecta (HAI) e inmunofluorescencia indirecta (IFI), por lo que este trabajo postula el uso de la técnica de ELISA por su alta eficiencia, bajo costo para estudios epidemiológicos y su utilidad para evaluar el estado de infección. Este último puede ser determinado por una variación de esta técnica, ELISA de avidéz, factor de gran importancia debido a que durante la infección aguda se da la liberación de ooquistes al ambiente.

De esta manera, es necesario el conocimiento del estado epidemiológico actual de esta parasitosis en nuestro país, dentro de lo cual se contempla el conocimiento de la infección en felinos como agentes transmisores y su impacto en salud pública. Además, la implementación de la prueba de ELISA para el estudio epidemiológico de *T. gondii* en gatos y su estado de infección en la capital peruana, resultaría un aporte metodológico innovador en el estudio de esta zoonosis en el Perú.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 BIOLOGÍA DEL PARÁSITO *Toxoplasma gondii*

T. gondii es un protozoo parásito intracelular perteneciente al filo Apicomplexa descrito por primera vez por Nicolle y Manceaux en 1908, capaz de parasitar un vasto rango de hospederos homeotermos en ambientes tanto marinos como terrestres, en donde se incluye al ser humano (Dubey, 2008). Los felinos, incluyendo al gato doméstico (*Felis catus*), son hospederos definitivos de este parásito, desarrollándose su fase sexual en estos.

Genéticamente, han sido descritos tres grandes linajes (Howe y Sibley, 1995), aunque se postula un cuarto en Norteamérica (Khan *et al.*, 2011). Aun cuando la mayoría de estudios de diversidad genética se ha realizado en Europa y Norteamérica, es en Centro y Sudamérica donde se encuentra la mayor variedad de genotipos dentro de estos linajes, pertenecientes en su mayoría a los Tipo II y Tipo III (Rajendran *et al.*, 2012).

Se distinguen tres principales formas, las cuales en mayor o menor medida son infectivas: taquizoíto, estadio proliferativo que virtualmente puede invadir cualquier célula nucleada y se reproduce asexualmente por endodiogenia; bradizoíto, forma de resistencia y latencia del parásito que forma quistes tisulares; y ooquiste, forma infectiva producida únicamente en el hospedero definitivo que contiene dos esporoquistes, los que a su vez albergan cuatro esporozoítos (Weiss y Kim, 2007).

El ciclo biológico de *T. gondii* comprende las siguientes etapas (Fig. 1): en el hospedero definitivo, el parásito luego de reproducirse por varias generaciones en el epitelio intestinal, inicia su fase sexual dando lugar a la formación de ooquistes que son expulsados a través de las heces del animal, estos en primera instancia son inmaduros y no infectivos, ya que requieren madurar (esporular) en el ambiente. Una vez esporulados, estos mediante la vía fecal-oral pasan al siguiente hospedero, en el cual se desarrolla la fase taquizoíta, de rápida multiplicación. Es en esta etapa donde el parásito puede transmitirse de forma transplacentaria. Los taquizoitos luego de la invasión celular pasan a formas de latencia (bradizoítos) constituyendo quistes tisulares en los órganos y tejido muscular principalmente en hospederos intermediarios como animales de consumo, roedores y el hombre. El ciclo se reinicia a través del carnivorismo del nuevo hospedero felino al cazar roedores infectados o al ser alimentado con carnes crudas o mal cocidas conteniendo los quistes tisulares de *T. gondii*, donde esta última también es vía común en humanos. Asimismo, la ingesta de ooquistes constituye otra ruta de infección para la continuidad de este ciclo (Dubey, 2010).

El tiempo de viabilidad y resistencia de los ooquistes a las condiciones externas es remarcable, especialmente si se mantienen en sombra, humedad y temperatura adecuadas. Se ha demostrado su viabilidad por al menos 13 meses a 19.5°C, 18 meses debajo de tierra suelta, 24 meses en agua de mar y 54 meses en agua fresca, e incluso por cerca de un año en viales con ácido sulfúrico al 2% a 4°C (Torrey y Yolken, 2013).

La comprensión de los aspectos biológicos, capacidad infectiva y carácter cosmopolita de *T. gondii* resulta de gran importancia en la prevención y tratamiento de esta zoonosis parasitaria en salud pública, así como el papel fundamental que cumple el gato doméstico como único hospedero definitivo del parásito en zonas urbanas.

El impacto y consecuencias que genera la adquisición de la infección por *T. gondii*, sobre todo en individuos susceptibles inmunológicamente se abordará en las siguientes secciones tanto en seres humanos como en animales, enfatizando en el gato doméstico debido a su rol clave en el ciclo biológico y cercanía al ser humano como mascota, donde las interrelaciones se agudizan.

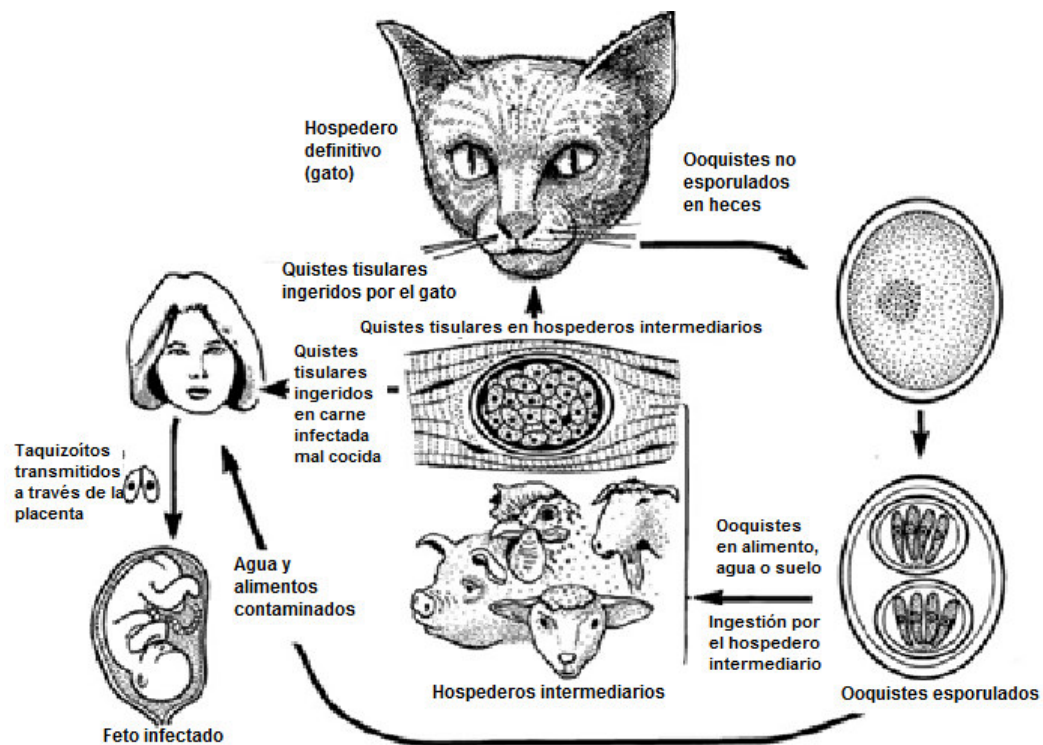


Figura 1. Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*. Tomado y modificado de Hill *et al.* (2005)

2.2 TOXOPLASMOSIS EN HUMANOS

Casos de toxoplasmosis humana han sido reportados en todo el mundo, siendo afectados, según estudios epidemiológicos, un tercio de la población mundial aproximadamente. La prevalencia varía enormemente entre países, donde los rangos pueden oscilar entre el 5% y 80%, en función de las costumbres sociales y las condiciones medioambientales de la región. Para América Latina se ha reportado una alta seroprevalencia, superior al 50% en algunas regiones, lo cual se ve agudizado por la presencia de genotipos recombinantes o atípicos en fauna silvestre (Pappas *et al.*, 2009; Petersen, 2007).

La infección en humanos puede darse por dos vías: adquirida y congénita. La primera se produce mediante la ingestión de ooquistes infectivos propagados a través del agua y alimentos contaminados; además, en mayor medida por el consumo de carnes poco cocidas de animales infectados. La vía congénita está asociada a la transmisión transplacentaria al feto cuando la madre se infecta durante el embarazo (Kijlstra y Jongert, 2008; Sepúlveda-Arias *et al.* 2014)

La infección por *T. gondii* es usualmente asintomática en individuos inmunocompetentes, aunque pueden presentarse algunos síntomas similares a la influenza (Pitmann y Knoll, 2015) o en casos excepcionales la diseminación del parásito causando severos cuadros clínicos (Nunura *et al.*, 2010). En cambio, los casos más graves se relacionan con la transmisión transplacentaria al feto, constituyendo una causa importante de morbilidad y mortalidad neonatal, a través de sus manifestaciones más importantes como retinocoroiditis, calcificación intracraneal, hidrocefalia (Reátegui y Vela, 2011) y la ocurrencia de abortos (Zavala-Velásquez *et al.*, 1989). De igual manera, la infección por *T. gondii* en personas inmunocomprometidas, tales como pacientes en proceso de transplante de órganos,

bajo tratamiento contra el cáncer o VIH positivos, puede ocasionar encefalitis y toxoplasmosis pulmonar ya sea por una infección primaria o por reactivación de bradizoítos latentes en quistes tisulares (Pitmann y Knoll, 2015).

Los cuadros clínicos tienen causa multifactorial, dentro de los cuales resaltan el estado inmune del hospedero, la virulencia del parásito, el estadio del parásito y la vía de infección, entre otros (Dubey, 2004; Robert-Gangneux y Dardé, 2012).

Actualmente, la toxoplasmosis es catalogada como una enfermedad tropical desatendida y marginalizada (WHO, 2012; Hotez, 2013), por lo que la Organización Mundial de la Salud (*WHO*, por sus siglas en inglés) ha establecido las necesidades de investigación en *T. gondii*, destacando el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico seguras y económicas para la detección de toxoplasmosis aguda durante el embarazo en la madre y el feto así como el diagnóstico de toxoplasmosis cerebral en pacientes seropositivos a VIH de alto riesgo, la cuantificación de casos de abortos atribuidos a *T. gondii* y la implementación de programas educativos que fomenten la higiene alimentaria en el hogar, con énfasis en mujeres gestantes (WHO, 2012).

2.3 TOXOPLASMOSIS EN ANIMALES

De la misma manera que en el hombre, *T. gondii* es capaz de infectar a animales domésticos y silvestres. El primer reporte de toxoplasmosis fatal fue descrito en 1910 por Mello, quien comunicó la muerte de un perro a causa de una toxoplasmosis visceral aguda (Dubey, 2008). Desde esa fecha numerosos estudios han sido orientados al estudio de esta parasitosis en animales.

La enfermedad puede tener un serio impacto en ciertos grupos de animales de granja tales como las ovejas, cabras y cerdos, en los cuales puede causar muerte fetal, aborto o muerte neonatal. Asimismo, aquellos animales que sobreviven a la infección pueden albergar quistes tisulares y posteriormente transmitir la infección a otros animales o al hombre.

Manifestaciones clínicas y subclínicas han sido reportadas en animales silvestres, lo cual se explica mediante la contaminación de sus entornos con ooquistes liberados por félidos domésticos o salvajes, así como la adquisición de la infección por carnivorismo en algunas especies. Así, ha sido reportado el contacto con el parásito *T. gondii* en osos, zorros, ciervos, gacelas, hurones, mapaches, monos, marsupiales e incluso aves. Se ha reportado además la infección con desenlaces fatales en animales tales como nutrias y leones marinos, demostrando así la capacidad de *T. gondii* para infectar no solo en ambientes terrestres (Hill *et al.*, 2005; Thompson, 2013).

Los estudios hechos en el gato doméstico (*Felis catus*) tanto en el Perú como en el resto del mundo se detallarán más adelante en una sección aparte, haciendo énfasis en su rol como principal diseminador de *T. gondii* a través de ooquistes en áreas urbanas y en el estado epidemiológico de esta parasitosis para la población felina en cuestión.

2.4 SITUACIÓN DE LA TOXOPLASMOSIS EN EL PERÚ

2.4.1. Toxoplasmosis en humanos

El primer reporte de toxoplasmosis humana en adultos a nivel mundial se registró en Perú por Pinkerton y Weinman en 1940, identificando al parásito en el corazón, bazo y otros tejidos de un hombre peruano de 22 años que había fallecido tres años atrás, el cual además presentaba bartonelosis.

En 1971, utilizando las técnicas serológicas de fijación de complemento y hemaglutinación, Cornejo *et al.* evaluaron la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en 32 pacientes del Hospital Obrero de Lima, obteniendo el 45.87% de seropositivos y evidenciando asociación con afecciones oculares y episodios de aborto (Cornejo *et al.*, 1971). Un año más tarde, Náquira *et al.* estudiaron la seroprevalencia de la infección humana por *T. gondii* en los departamentos de San Martín, Huánuco, Junín y Lima empleando las mismas técnicas, reportando una seroprevalencia del 34.3% y una mayor frecuencia en ciudades de selva y costa con respecto a la sierra (Náquira *et al.*, 1972).

Mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), ELISA y Electro Inmuno Trans Blotting (EITB), Calderón *et al.* en 1992 ejecutaron otro estudio multirregional en Lima, Junín y San Martín, encontrando frecuencias de anticuerpos IgG anti *T. gondii* del 50% para la costa, 31% para la sierra y 57% para la selva (Calderón *et al.*, 1992).

En relación al estudio de toxoplasmosis en grupos humanos inmunodeprimidos, en 1998, Maguiña *et al.*, realizaron un estudio prospectivo en donde se evaluó a 80 pacientes en fase aguda anemizante de bartonelosis en el Hospital Nacional Cayetano Heredia (Lima), hallando

episodios de toxoplasmosis reactivada (Maguiña *et al.*, 1998). Asimismo, Cáceda *et al.* ejecutaron un estudio retrospectivo con pacientes adultos con SIDA con diagnóstico de toxoplasmosis cerebral en el Hospital Nacional Cayetano Heredia (Lima) atendidos entre los años 1989 y 1999. Luego de analizar datos clínicos y serológicos, se atribuyó a la toxoplasmosis cerebral como primera causa de muerte en esta población (Cáceda *et al.* 2000). De modo similar, Eza *et al.* realizaron un análisis retrospectivo a 16 cadáveres de pacientes con SIDA en el Hospital Nacional Dos de Mayo (Lima). Luego de la revisión de antecedentes clínico-epidemiológicos y evaluación histopatológica se determinó que el 68.8% fallecieron a causa de infecciones oportunistas dentro de las cuales el 18.2% se asoció a toxoplasmosis con compromiso del sistema nervioso central (Eza *et al.* 2006).

En 2010 fue reportado un caso poco común, presentándose toxoplasmosis diseminada en un hombre inmunocompetente de 37 años proveniente de la selva peruana que presentaba neumonía, retinocoroiditis, hepatitis y miositis. La presencia de anticuerpos IgM e IgG así como la identificación del parásito por taquizoítos en sangre y bradizoítos en una biopsia de tejido muscular confirmaron la infección. Este hombre admitió haber tomado agua no potabilizada, alimentarse con carnes poco cocidas de animales que cazaba con su brigada y convivir con tres gatos durante los cuatro meses que duró su operación militar en las laderas del río Putumayo (Nunura *et al.*, 2010).

Reátegui y Vela (2011) determinaron la relación entre factores económicos y la seroprevalencia de la toxoplasmosis en mujeres gestantes que asistían a sus controles en dos hospitales de la región Loreto. Haciendo uso de un *kit* comercial de ELISA, reportaron una prevalencia del 94.5% en el Hospital Regional y un 86.8% en el Hospital de Iquitos; además, una relación

significativa entre hábitos alimenticios como la ingesta de vegetales sin lavar (Reátegui y Vela, 2011). Años más tarde, Mogollón (2016) desarrolló y estandarizó un ELISA indirecto para la detección de anticuerpos IgG humanos anti *T. gondii* en hombres y mujeres de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Lima), Universidad Peruana Cayetano Heredia (Lima) y Hogar Clínica San Juan de Dios (Cuzco), obteniendo resultados favorables en cuanto a sensibilidad y especificidad comparado con un *kit* comercial mexicano de ELISA, además de una prevalencia de 39.8% (Mogollón, 2016). En síntesis, aunque existe poca información sobre la situación de la toxoplasmosis humana en el Perú, los reportes de los estudios hechos reflejan la necesidad de ser atendida de forma ordenada y sistemática. Además, no solo debe llamar la atención los índices de infección y los compromisos de la infección en pacientes inmunodeficientes y gestantes, sino también el rol que cumplen los animales en la transmisión de esta zoonosis en ambientes urbanos y rurales.

2.4.2. Toxoplasmosis en animales

En comparación a los estudios realizados en el Perú sobre toxoplasmosis humana, los publicados en animales representan la gran mayoría. Estos trabajos han sido principalmente hechos en animales de importancia económica, debido al impacto que causa en la producción de carnes y sus derivados en porcinos y aves de corral así como en la industria textil en camélidos y ovinos; sin embargo y en menor medida, existen reportes de prevalencia en animales silvestres y domésticos. En suma, la importancia de los estudios realizados recae en la utilidad de estos índices como indicativos de la presencia y el potencial riesgo zoonótico de *T.gondii*.

En cuanto a los estudios hechos en animales de consumo humano, destacan los siguientes trabajos: Suárez-Aranda *et al.* (2000) hicieron una evaluación serológica en 396 cerdos de Lima (96) y Sao Paulo (300) empleando las técnicas de ELISA y Western Blot, así como una variación del ELISA para estimar la avidéz de anticuerpos IgG contra *T. gondii*. Dentro de sus resultados y conclusiones, obtuvieron prevalencias del 32.3% y 9.6% para Perú y Brasil, respectivamente. Años después y mediante Western Blot, Saavedra y Ortega (2004) reportaron prevalencias 27.7% y 16.4% en cerdos de Lima y Georgia, respectivamente. En el análisis comparativo frente a prevalencias en cerdos tanto de Sudamérica como de Norteamérica, estos resultados ponen de manifiesto el riesgo zoonótico por ingestión de carne porcina contaminada en la capital peruana, más aun si la cocción no es la adecuada. Por otro lado, para aves de corral, Dubey *et al.* (2004a) realizaron un estudio serológico mediante el test de aglutinación modificado (MAT) y posterior caracterización molecular de *T. gondii* en pollos de traspatio provenientes del distrito de San Juan de Miraflores (Lima). Como resultado obtuvieron que el 28% presentaban anticuerpos anti *T. gondii*, de los cuales fue posible identificar cepas del tipo I y III para el marcador SAG2. Los datos publicados representan el primer y único registro de los genotipos presentes en nuestro país, además del riesgo zoonótico.

En relación a los estudios desarrollados en camélidos sudamericanos presentes en zonas altoandinas, Suárez *et al.* (2004) evaluaron por IFI la seroprevalencia de la toxoplasmosis en alpacas del sur del Perú, alcanzando una frecuencia de 34.5%, con mayor incidencia en hembras y animales de mayor edad. También en alpacas, Ramírez *et al.* (2005) detectaron anticuerpos contra *T. gondii* en Cuzco mediante la misma técnica con una

prevalencia del 35.7%. De la misma manera, Zuzunaga *et al.* evaluó la prevalencia de anticuerpos IgG anti *T. gondii* en vicuñas de la Reserva Nacional de Pampa Galeras en Ayacucho por IFI, encontrando frecuencias de 5.8% sin observarse diferencias estadísticas entre sexo y grupo etáreo, confirmando el contacto con el parásito y asociándolo con la presencia de felinos salvajes y las fuentes de agua además de pastizales que comparten (Zuzunaga *et al.*, 2006). Finalmente, en llamas hembra de la sierra central, se reportó una seroprevalencia del 13.7% por la misma técnica.

Dentro de los escasos trabajos realizados en animales silvestres del Perú, destaca un estudio serológico en el pecarí barbiblanco (*Tayassu pecari*) en tres áreas de conservación dentro de la amazonía peruana. Este estudio evidenció el contacto con *T. gondii* al obtenerse 89.1% de prevalencia de anticuerpos IgG contra el parásito (Romero *et al.*, 2010).

La importancia de este último reporte no solo ubica a animales silvestres como el pecarí barbiblanco como una especie centinela, anticipando los riesgos de infección en comunidades cercanas, sino que también es cazado ilegalmente y utilizado para consumo humano. Curiosamente, en el reporte de toxoplasmosis diseminada en un hombre inmunocompetente realizado por Nunura *et al.* (2010), el paciente admitió cazar y haberse alimentado de tapires y pecaríes.

2.5 PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

El diagnóstico, así como la caracterización genética de la infección por *T. gondii*, son pilares cruciales para la vigilancia, prevención y control de la toxoplasmosis tanto humana como animal alrededor del mundo. Las herramientas para lograr estos objetivos constituyen un muy diverso y heterogéneo conjunto de técnicas basadas en la detección de la presencia del parásito o alguno de sus componentes celulares, así como anticuerpos específicos que la evidencien ya sea en una infección en curso o anterior. De esta manera, la aplicación de estas técnicas solas o por separado que puedan brindar un diagnóstico acertado requiere también de una adecuada toma de muestra según la naturaleza de esta, la cual debe darse en torno a la sospecha clínica y los objetivos fijados (Dubey, 2010; Liu *et al.*, 2015; Dard *et al.*, 2016).

A continuación, se describen las más importantes técnicas desarrolladas para el estudio de *T. gondii*:

2.5.1. Microscopía e histopatología

La identificación del parásito por microscopía ha sido tradicionalmente el método más utilizado en muestras fecales, de agua y tejidos mediante tinciones como Giemsa, Hematoxilina-Eosina o PAS; sin embargo, para el diagnóstico confirmatorio de toxoplasmosis es necesario el acompañamiento de otras técnicas (Liu *et al.*, 2015). De esta manera, el uso de la Inmunohistoquímica ha permitido la confirmación del diagnóstico histopatológico demostrando la presencia del parásito en el sistema nervioso central en pacientes con SIDA, por ejemplo (Montoya, 2002; Cedillo-Peláez, 2009). Sumado a esto, técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) pueden confirmar la presencia de taquizoítos en la

presunción de toxoplasmosis reactivada en inmunosuprimidos (Robert-Gangneux y Dardé 2012).

Estudios histopatológicos se han ejecutado en animales con manifestación de cuadros clínicos atípicos y posterior deceso, particularmente en animales silvestres tales como suricatos (Basso *et al.* 2009), primates de nuevo mundo (Cedillo-Peláez *et al.* 2011), pingüinos (Ploeg *et al.*, 2011), entre otros. Estos autores reportaron la presencia de lesiones necróticas, hemorragia y taquizoítos en hígado, pulmón, cerebro y nódulos linfáticos; lo cual indica el deceso de los animales a causa de una toxoplasmosis aguda.

2.5.2. Bioensayo

El aislamiento de *T. gondii* mediante bioensayos utilizando animales de laboratorio es generalmente considerado como el *gold standard* para la detección de la infección por este parásito (Liu *et al.*, 2015), por lo que muchos estudios emplean el bioensayo para el estudio de la toxoplasmosis en animales. Por ejemplo, se puede determinar la infección crónica en una determinada especie a partir de una biopsia tisular y posterior inoculación en ratón de tal manera que se pueden obtener estadios de taquizoítos o quistes del parásito. Adicionalmente se emplea el modelo murino para aislar al parásito a partir de ooquistes obtenidos de heces de gatos infectados. Tanto la infección en ratón por biopsia o por ooquistes ayuda no sólo al aislamiento sino también provee de material biológico a partir del cual se puede hacer el posterior análisis molecular (Pena *et al.* 2006).

2.5.3. Serología

Las pruebas serológicas son actualmente las más utilizadas mundialmente en el diagnóstico de toxoplasmosis humana y animal. Estas se basan en la detección de anticuerpos específicos anti *T. gondii* circulantes en sangre del paciente. Debido a la baja invasividad de la toma de muestra y costo relativamente bajo, este grupo de métodos son idóneos para estudios epidemiológicos así como para el diagnóstico de toxoplasmosis, especialmente en el ser humano.

Los métodos serológicos desarrollados hasta la fecha para el estudio de la toxoplasmosis han sido recopilados por Dard *et al.* (2016), siendo los más importantes los siguientes:

Dentro de los métodos que utilizan al parásito entero se encuentran

- *Sabin-Feldman Dye Test*: Se fundamenta en la adición de suero de complementado a una suspensión de parásitos vivos, produciendo la lisis del parásito si hay presencia de anticuerpos anti-*T. gondii*. Permite el diagnóstico de infección aguda y crónica así como la detección temprana de anticuerpos en infecciones primarias con una buena sensibilidad y especificidad; sin embargo, al ser un procedimiento manual y requerir el cultivo del parásito en laboratorio, resulta complicado si no se cuenta con los equipos e infraestructura adecuados, además está sujeta a errores manuales.
- *ISAGA*: Puede ser utilizada para la detección de anticuerpos IgM, IgA e IgE. Requiere el uso de microplacas sensibilizadas con anticuerpos anti-Inmunoglobulina incubadas con suero y posteriormente con

taquizoítos fijados en formalina. La aglutinación evidencia positividad, mientras la formación de un botón en el fondo, lo contrario. Útil, simple, rápido, sensible y específica en el seguimiento de pacientes pediátricos de quienes se sospecha toxoplasmosis congénita, no obstante, requiere personal capacitado.

- *MAT*: Similar a la anterior prueba, no necesita fijación de anticuerpos en microplaca, reportando como positiva la aglutinación y negativa la formación de botón en placa. Ampliamente utilizada en estudios epidemiológicos en el campo veterinario (Dubey *et al.*, 2004a; Piassa *et al.*, 2010; Waap *et al.*, 2012; Gotteland *et al.*, 2014). Es simple y específica, aunque como toda técnica manual, son posibles los errores de personal.
- *Inmunofluorescencia indirecta (IFI)*: Utilización de láminas para microscopía de fluorescencia. Taquizoítos fijados a la lámina son enfrentados al suero problema. Se revela con la adición de anticuerpos anti-IgG o anti-IgM marcados con un fluorocromo. Su uso en estudios epidemiológicos veterinarios es de gran distribución así como en el diagnóstico humano de toxoplasmosis aguda y crónica debido a su alta sensibilidad y especificidad, siendo una prueba de referencia en muchos estudios (Maguiña *et al.*, 1998; Zuzunaga *et al.*, 2006; Rodrigues *et al.*, 2016)

Dentro de los métodos que utilizan antígenos parasitarios recombinantes o extractos antigénicos se tienen los siguientes:

- *ELISA*: Se basa en la interacción de antígenos de *T. gondii* con los anticuerpos del suero en una microplaca de poliestireno, en donde por medio de anticuerpos marcados, generalmente por una enzima, permiten la visibilidad de la reacción por medio de absorbancias que son medidas por un lector. Es útil para el diagnóstico de toxoplasmosis aguda y crónica, además de utilizarse en el *screening* en mujeres embarazadas (Reátegui y Vela, 2011), y al ser automatizable, reduce los errores de personal y pueden manejarse gran cantidad de muestras por placa en las mismas condiciones.
- *HAI*: Se fundamenta en la aglutinación que ocurre al enfrentar el suero del paciente positivo con glóbulos rojos sensibilizados por antígenos del parásito. Es una prueba simple y rápida, usada en investigaciones epidemiológicas masivas (Cerro *et al.*, 2014), no obstante, no cuenta con gran sensibilidad o especificidad.
- *Western Blot*: Adición del suero problema en tiras de papel de nitrocelulosa en donde se han depositado antígenos de *T. gondii* recombinantes o provenientes del lisado del taquizoíto en forma de bandas por electroforesis. El revelado se da por la adición de un sustrato cromógeno que marca las bandas características del parásito en reacciones positivas. Útil en la comparación de perfiles serológicos entre la madre y el hijo en caso de sospecha de toxoplasmosis congénita así como de uso en estudios veterinarios (Azevedo *et al.*, 2010). De gran sensibilidad y especificidad.

- *Ensayos de avidéz de IgG*: Se basa en el hecho que la unión específica antígeno-anticuerpo se va desarrollando y madurando a través del tiempo haciéndose más fuerte, por lo que la adición de un agente desnaturalizante en alta concentración como úrea y la variación entre los valores de absorbancia –en el caso de ELISA– con respecto a la muestra sin tratar, podrían evidenciar el estado de infección reciente o crónico, aunque aún se presentan ciertas limitaciones, no siendo siempre garantía de tiempo de infección (Dubey, 2010; Rahbari *et al.*, 2012; Dard *et al.*, 2016).

2.5.4. Biología molecular

Con respecto a la biología molecular, la PCR ha extendido su uso permitiendo detectar el ADN de *T. gondii* en muestras de tejido y fluidos, contribuyendo al diagnóstico de toxoplasmosis congénita, ocular y cerebral (Weiss y Kim, 2007). La gran especificidad, sensibilidad y rapidez que provee la ha situado como una de las técnicas más confiables. Sin embargo, en condiciones de bajo nivel parasitario, la sensibilidad puede verse afectada (Dubey, 2010; Sterkers *et al.*, 2010). Variaciones de esta técnica como la PCR en tiempo real permiten además evaluar la progresión de la toxoplasmosis y la eficacia del tratamiento al estimar la intensidad de la infección (Liu *et al.*, 2015). Aspectos a considerar son el uso de técnicas apropiadas para el aislamiento del material genético de la muestra, las características de la secuencia de ADN elegida para la amplificación y los parámetros de la reacción de amplificación (Switaj *et al.*, 2005).

Para la genotipificación de *T. gondii* mediante el uso de marcadores moleculares propios del parásito, las técnicas de mayor uso en este campo son el secuenciamiento y RFLP, en donde en esta última se realizan cortes enzimáticos en sitios específicos que luego son identificados mediante electroforesis en gel. Por ejemplo, la diversidad genética ha sido ampliamente estudiada en fauna silvestre, especialmente en Brasil, donde se reportan genotipos atípicos y recombinantes (Pena *et al.* 2008; Switaj *et al.* 2005).

Por todo lo anteriormente expuesto, en el presente estudio se sugiere el empleo de la prueba de ELISA como alternativa en estudios epidemiológicos, y en este caso particular, en gatos domésticos como hospederos definitivos de *T. gondii*. Esta técnica ha demostrado índices de especificidad y sensibilidad satisfactorios en el diagnóstico de toxoplasmosis, al presentar concordancias casi absolutas con la IFI además de requerir equipos y materiales de menor costo (Cortés y Mancera, 2009).

En los trabajos realizados en animales usualmente se emplean la técnica de MAT y HAI, sin embargo, estudios han demostrado el poco poder resolutivo y de detección en la HAI con respecto a ELISA e IFI (Suaréz-Aranda *et al.*, 2000; Gardner *et al.*, 2010). Del mismo modo, se reducen en mayor o menor medida los errores de personal con respecto al MAT, siendo el ELISA evaluado por absorbancias y no por reconocimiento visual, así como la mayor simpleza en la preparación de sus componentes. Además, la técnica de ELISA es útil para detectar el estado de infección mediante una variante como el ELISA de avidéz (Hedman *et al.*, 1989; Lappalainen *et al.*, 1993; Suaréz-Aranda *et al.*, 2000; Tanyuksel *et al.*, 2004; Rahbari *et al.*, 2012).

2.6. ESTUDIOS DE LA INFECCIÓN POR *Toxoplasma gondii* EN GATOS

2.6.1. Relación hospedero-parásito en el gato doméstico (*Felis catus*)

Debido a la estrecha relación que guarda el ser humano con el gato doméstico como mascota y el rol que cumple como único hospedero definitivo de *T. gondii* en áreas urbanas, muchos de los estudios relacionados al ciclo de vida y epidemiología de este parásito han sido realizados en este animal. No obstante, gracias a una gran variedad de estudios, han logrado ser descritas 33 especies de felinos en total donde *T. gondii* también desarrolla su fase sexual, las cuales han sido recopiladas por Jones y Dubey (2010).

Respecto a la toxoplasmosis en *Felis catus*, Dubey –el más prolífico investigador en *T. gondii*– hace una revisión de los estudios que se han desarrollado con respecto a la toxoplasmosis en gatos en un capítulo del libro titulado *Toxoplasma gondii The model Apicomplexan: Perspectives and Methods* (Weiss y Kim, 2007), con algunas de las siguientes conclusiones:

En general, los gatos son asintomáticos durante la infección primaria por *T. gondii*. En gatos con toxoplasmosis clínica se suele presentar fiebre con mucha frecuencia, así como disnea, polipnea, ictericia y signos de malestar abdominal, siendo los órganos más afectados pulmones e hígado. Afecciones como uveítis y retinocoroiditis son comunes (Dubey y Carpenter, 1993). Todos los gatos domésticos, sin distinción de edad, raza o sexo, son susceptibles a *T. gondii* (Dubey *et al.*, 1977). La inmunidad intestinal se mantiene a través del tiempo, por lo que generalmente los gatos que han excretado ooquistes no lo vuelven a hacer si vuelven a tener contacto con el

parásito en los siguientes seis a doce meses. No obstante, cerca de los 6 años, la inmunidad puede ser efectiva en el 55% de los individuos (Dubey, 1995).

Con respecto a la respuesta humoral, se ha demostrado experimentalmente la persistencia de anticuerpos IgM por hasta 16 semanas e IgG al menos un año (Lappin *et al.*, 1989). Además, la aparición de IgM se estaría dando dentro de la primera y segunda semana de infección y la IgG entre la segunda y cuarta semana de infección primaria (Grandía *et al.*, 2013).

La inmunidad humoral no cumple un papel significativo en la resistencia intestinal a *T. gondii*, siendo la mediada por células la de mayor importancia. La presencia de anticuerpos IgM, IgG o IgA en suero es posterior a la excreción de ooquistes en heces (Lappin *et al.*, 1989).

Si bien la inmunidad humoral no es muy efectiva contra *T. gondii*, la utilidad de la serología, específicamente en el empleo de IgG mediante estudios epidemiológicos por su persistencia a través del tiempo, permite conocer la situación de la toxoplasmosis en la población felina y establecer lineamientos de prevención de contagio a través de su hospedero definitivo.

2.6.2. Epidemiología mundial de *T. gondii* en el gato doméstico

Los estudios epidemiológicos referentes a la infección parasitaria en gatos domésticos y silvestres son trascendentales por el rol que cumplen en el ciclo de vida de *T. gondii* y su potencial como transmisores de la infección a humanos. Tales estudios han sido desarrollados alrededor de todo el mundo, evidenciando gran heterogeneidad entre países, regiones e incluso dentro de una misma región en cuanto a prevalencias se trata (Dubey, 2010), y que

depende no solo de ubicación geográfica, sino también del periodo de tiempo que se realice el estudio, además de un variado conjunto de características de la población felina a estudiar. A continuación, se citan algunos estudios realizados en este grupo animal.

En Europa, Miró *et al.* (2004) mediante IFI evaluaron la seroprevalencia de *T. gondii* en gatos callejeros, de granja y domiciliados provenientes de las zonas norte y centro de España, obteniendo así frecuencias de anticuerpos IgG de 36.9%, 33.3% y 25.5% respectivamente, y una seropositividad general de 32.3%. En esa misma región de Europa, Lopes *et al.* reportan en 2008 una seroprevalencia de 37.2% en gatos domiciliados de Trás-os-Montes e Alto Douro (Portugal), mientras que Waap *et al.* (2012) describen en la capital Lisboa 44.2% (187/423) de gatos callejeros positivos para *T. gondii*, ambos empleando el test de aglutinación modificado (MAT). Al norte del continente, Must *et al.* (2015) reportan en Estonia una frecuencia de 60.8% en gatos domiciliados y de albergue por el mismo método.

Para el continente asiático, se estudió la seroprevalencia de este parásito en gatos callejeros del norte de Irán por test de aglutinación en látex (LAT), encontrando 40% de positividad de anticuerpos IgG anti *T. gondii* (Sharif *et al.*, 2009). Sukhumavasi *et al.* (2012) estudiaron la prevalencia de *T. gondii* en Tailandia empleando MAT, además de detectar antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis* y el virus de leucemia felina (FeLV) y anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia felina (FIV) por ELISA. Entre sus hallazgos más importantes se encuentran la prevalencia de *T. gondii* de 10.1% (35/348), donde dentro de estos 35 gatos seropositivos, 15 de ellos (42.9%) presentaban coinfección con al menos uno de los otros tres patógenos. Ding

et al. (2017) desarrollaron una amplia revisión sistemática de toxoplasmosis en gatos domésticos en China, cubriendo 15 provincias y municipalidades de un total de 38 estudios entre 1995 y 2016, encontrando un rango muy variable de seroprevalencias que van de 3.9% a 79.4%, enfatizando la importancia de factores asociados al incremento de estas, los cuales serán abordados en detalle más adelante.

Un estudio realizado en Virginia (Estados Unidos) reportó, mediante análisis coprológico y PCR, la infección aguda en gatos quienes liberaban ooquistes; siendo esta una alta tasa (9/49) respecto a otros reportes en otros países (Lilly y Wortham 2013). García-Márquez *et al.* estudiaron la seroprevalencia en gatos domésticos de la ciudad de Colima (México) haciendo uso de un ELISA indirecto para la detección de anticuerpos IgG anti *T. gondii*. Como principales hallazgos comunicaron una prevalencia del 28.8% y una elevada relación entre la infección y el consumo de comida casera no balanceada (García-Márquez *et al.* 2007). En otra ciudad mexicana, Besné-Mérida *et al.* analizaron un total de 169 gatos domésticos del Distrito Federal y reportaron una seropositividad del 21.8%, la misma que estuvo asociada a la edad, alimentación y el sexo femenino (Besné-Mérida *et al.* 2008)

En Sudamérica, los estudios seroepidemiológicos referidos a *T. gondii* en gatos han sido realizados principalmente en Brasil, a través de distintos métodos diagnósticos. Un estudio desarrollado en el Sao Paulo detectó una frecuencia de anticuerpos del 35.4% en 237 gatos de 15 distintos condados del mismo estado mediante MAT; además, evaluaron la liberación de ooquistes, reportando que el 1.3% (3/237) fue positivo al análisis coproparasitológico y mediante análisis molecular se hallaron los genotipos

I y III (Pena *et al.* 2006). Otro estudio realizado en Paraná reportó un 84.4% (49/58) de infección haciendo uso de la misma técnica (Dubey *et al.*, 2004b). En el mismo estado de Paraná, en la ciudad de Curitiba, se detectaron anticuerpos IgG contra *T. gondii* por IFI en gatos atendidos en una clínica veterinaria local, obteniendo una frecuencia de 16.3% (Cruz *et al.*, 2011); así también por esta prueba, se reportó una ocurrencia de anticuerpos del 32.5% para este parásito en gatos domiciliados y callejeros en un área endémica de leishmaniasis en la ciudad de Campo Grande, estado de Mato Grosso del Sur (Sousa *et al.*, 2014).

En el Perú, Castillo *et al.* (2012) estudiaron los tipos de crianza de gatos de Lima y el riesgo que supone para la infección con *T. gondii*; para ello realizaron una evaluación serológica por hemaglutinación indirecta (HAI) acompañada de una encuesta a los dueños. Como resultado obtuvieron que el 19% tenían anticuerpos anti *T. gondii* y no hubo una asociación entre el tipo de crianza y la frecuencia hallada. Otro estudio realizado por Cerro *et al.* (2014) reportó una seropositividad del 11% mediante la técnica de hemaglutinación indirecta (HAI) y la ausencia de ooquistes en heces luego de realizar un análisis coproparasitológico. La relevancia de estos estudios se basa en el hecho de que los gatos representan un foco de contaminación de ambientes urbanos, el mismo que se ve reforzado por algunas prácticas de crianza de los dueños como alimentarlos con carnes crudas o poco cocidas incrementando así la posibilidad de infección (Castillo *et al.*, 2012; Cerro *et al.*, 2014; Cerro *et al.*, 2009).

2.6.3. Factores asociados a la infección por *T. gondii* en gatos domésticos

En contraste con la heterogeneidad de las prevalencias reportadas en el mundo, la mayoría de estudios epidemiológicos realizados indican una reiteración de factores asociados al aumento de esta, los cuales constituyen hábitos de vida del animal y estilo de crianza por parte del dueño. Estos factores si bien individualmente aumentan la probabilidad de adquirir la infección por *T. gondii*, sumados pueden desencadenar una alarmante sinergia. Son muchos los factores de riesgo, sin embargo, se describen a continuación los contemplados en el presente trabajo, los que han sido seleccionados debido a su impacto y relevancia en los estudios realizados previamente.

La edad de la mascota como factor de riesgo para la adquisición de la infección por *T. gondii* ha sido descrita en estudios de todo el mundo, los cuales indican una orientación al aumento significativo de la seropositividad con respecto a la edad, demostrando transmisión postnatal (Dubey, 2010). Pena *et al.* (2006) en Brasil reportaron en gatos domiciliados una frecuencia de positivos mayores de un año de más del triple del valor de los menores; Lopes *et al.* (2008) encontraron en Portugal que los felinos de 36 a 180 meses de vida pueden alcanzar a tener una frecuencia de seropositividad del doble del valor de los individuos de 12 a 35 meses y mayor al triple de los pertenecientes al rango de 2 a 11 meses; Ovalle *et al.* (2000) en Chile, Maruyama *et al.* (2003) en Japón, Miró *et al.* (2004) en España, Sharif *et al.* (2009) en Irán y Must *et al.* (2015) en Estonia encontraron la misma tendencia. Esta tendencia se explica por la mayor probabilidad de tener

contacto con el parásito a lo largo de su vida (Lopes *et al.*, 2008) y la conducta de los felinos adultos con respecto a los juveniles.

El acceso a espacios con posible contaminación por ooquistes es también de gran relevancia en el aumento de seroprevalencia por *T. gondii*. Han sido notorias las diferencias en el estudio comparativo entre gatos callejeros y domiciliados (Miró *et al.*, 2004; Hong *et al.*, 2013). Así, bajas prevalencias en investigaciones hechas exclusivamente en gatos domiciliados como las de Dalla Rosa *et al.* (2010) y Cruz *et al.* (2011) (14.3% y 16.3%, respectivamente) en Brasil, contrastan con la alta seropositividad encontrada en gatos sin dueño que viven en calles o zonas rurales del mismo país, con ejemplos como el de Braga *et al.* (2012) con 50.5% y Fournier *et al.* (2014) con 52.8%. Además, dentro del grupo de gatos domiciliados, los que se les restringe totalmente la salida del hogar donde son criados presentan menores frecuencias de infección que los que tienen acceso a la calle o semiconfinados, pudiendo así estar expuestos al parásito en un ambiente contaminado (Lopes *et al.*, 2008; Pinto *et al.*, 2009; Cerro *et al.*, 2014; Must *et al.*, 2015).

El natural carnivorismo de los miembros de la familia Felidae los hace propensos a adquirir una infección por *T. gondii* a través de sus hospederos intermediarios. De esta manera, dos factores de riesgo se unen para explicar este hecho: la alimentación y los hábitos de caza.

T. gondii se ha ido adaptando a través de muchos mecanismos para su supervivencia, uno de ellos es la mayor infectividad de bradizoitos que de ooquistes en el gato, a diferencia de animales que bien podrían ser su presa como ratones (Dubey, 2001) o en el caso de animales herbívoros, donde la

ruta de infección a través de quistes tisulares resultaría bastante improbable. Sumado a esto, un reciente reporte de House *et al.* (2011) donde ratas infectadas por *T. gondii* eran afectadas a nivel cerebral por este parásito, las haría presumiblemente sensibles a olores específicamente felinos, generando un acercamiento a ellos en lugar de evitarlos como naturalmente ocurre en roedores sanos. Si bien tanto esta última investigación como muchas otras relacionadas al llamado 'control del hospedero' vienen siendo analizadas y en cierta medida cuestionadas (Worth *et al.*, 2013), podrían dar indicios de las complejas relaciones hospedero-parásito y la importancia del gato como hospedero definitivo para continuar el ciclo de *T. gondii* a través de su instinto de caza. Con todo esto, un ejemplo del impacto de este factor se describe en el estudio de Cerro *et al.* (2014), quienes, entre otros factores, incluyeron la comparación de seroprevalencias entre gatos cazadores y no cazadores en Lima (Perú), concluyendo en mayores frecuencias estadísticamente significativas para los primeros (21.4%) con respecto a estos últimos (7.1%).

Por otro lado, debido a que la conducta de caza en gatos está sujeta a la disponibilidad de alimento (van Heezik *et al.*, 2010) y por tanto, se reduce en domiciliados confinados, el tipo de alimento que se le brinda a la mascota juega un rol importante en la infección por *Toxoplasma*, siendo las carnes y vísceras crudas o poco cocidas las que mayor riesgo generan. Ejemplos de alta seropositividad a *T. gondii* por este tipo de alimentación han sido reportados por García-Márquez *et al.* (2007), encontrando mayor prevalencia en gatos alimentados con comida casera (40.6%) en comparación a los que se les daba alimento comercial (20.8%) en Colima, México; esta tendencia

también ha sido reportada por Castillo *et al.* (2012) en Lima, Perú. Análogamente, se encontraron seroprevalencias mayores en gatos alimentados con vísceras o carne cruda con respecto a los consumidores de exclusivamente alimento comercial y alimento casero en los estudios hechos por Besné-Merida (2008), Lopes *et al.* (2008) y Cerro *et al.* (2014) en México, Portugal y Perú, respectivamente.

El impacto o la ausencia de este en la seroprevalencia de dos factores que se tratarán a continuación según antecedentes, en mayor o menor medida, no ha sido esclarecido categóricamente, debido a que existen reportes considerándolos de riesgo y otros que los descalifican como tales. El factor que es quizá menos discutido debido a la gran cantidad de estudios que se han hecho considerándolo dentro de las variables y desestimando su importancia es el sexo del gato (Garcia *et al.*, 1999; DeFeo *et al.*, 2002; Dubey *et al.*, 2002; Pena *et al.*, 2006; García-Márquez *et al.*, 2007; Lopes *et al.*, 2008; Cruz *et al.*, 2011; Cerro *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2017). Sin embargo, existen también reportes como el de Besné-Mérida *et al.* (2008) donde se encontraron diferencias significativas en el aumento de seropositividad a *T. gondii* en hembras relacionándolas a factores hormonales, así como el estudio de Smith *et al.* (1992) reportando lo contrario, siendo los machos -sobre todo adultos- más propensos a adquirir la infección debido a su conducta territorial.

El otro factor que comparte ciertas similitudes con el anterior es la raza del gato a estudiar. Se han establecido múltiples enfoques para abordar la influencia de esta variable. A continuación, se describen algunos de ellos.

García-Márquez *et al.* (2007) no encontró asociación entre seropositividad y gatos siameses y no siameses en México. De la misma manera, en gatos del nordeste de Portugal no se observó asociación en razas puras no europeas y europeas o mestizas (Lopes *et al.*, 2008). Wang *et al.* (2017), por el contrario, encontró con que los gatos mestizos o cruces presentaban una mayor prevalencia de anticuerpos IgG anti *T. gondii* (23.89%) frente a los raza pura (16.67%) con significancia estadística. En Estonia, dos recientes estudios le concedieron relevancia a este factor; el primero, publicado en 2015, tuvo como objetivo evaluar la seroprevalencia de *T. gondii* en gatos en ese país y los factores asociados a esta, en donde se consideró el factor raza, siendo los mestizos más propensos que los raza pura a la infección (Must *et al.*, 2015). Más adelante, en 2017, el mismo investigador principal del anterior trabajo junto a un equipo de colaboradores realizó un estudio enfocado específicamente en las variaciones de seroprevalencia por *T. gondii* según la raza del gato, encontrando –en orden descendente– las siguientes frecuencias de anticuerpos IgG: 60.00% en persas, 46.65% en bosque de Noruega, 45.20% en birmanos, 43.18% en ocicat, 34.88% en siameses, 33.64% en pelocorto inglés, 28.95% en korat y en 18.82% burmeses (Must *et al.*, 2017).

De acuerdo con la bibliografía revisada, la causa de la infección por *T. gondii* en gatos domésticos es multifactorial, en donde confluyen la etología y el estado inmunológico del animal, la zona geográfica y una amplia variedad de factores de crianza que los hacen menos o más propensos a adquirirla, por lo que este estudio busca responder algunas de estas interrogantes en la capital peruana.

3. HIPÓTESIS

La utilización de la prueba de ELISA IgG permite la detección de una mayor seroprevalencia por *Toxoplasma gondii* en gatos domésticos de Lima Metropolitana con respecto a los reportes anteriores, la cual está asociada a sus hábitos de crianza.

4. OBJETIVOS

General:

- Evaluar la seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la infección por *T. gondii* en gatos domiciliados de Lima Metropolitana empleando un ELISA indirecto para la detección de anticuerpos IgG.

Específicos:

- Determinar la prevalencia de anticuerpos IgG anti *T. gondii* en gatos domésticos de Lima Metropolitana.
- Establecer los factores de riesgo asociados a la infección por *T. gondii* en gatos domésticos de Lima Metropolitana.
- Establecer el estado de infección reciente o tardío por *T. gondii* en gatos domésticos mediante la prueba de ELISA de avidez.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Muestra biológica

Se tomó un total de 118 sueros procedentes de 112 gatos domiciliados que se atendieron en clínicas veterinarias y 6 gatos del albergue 'Can Martín' de Cieneguilla entre el mes de agosto de 2017 y el mes de febrero de 2018. Se cubrieron en total, de forma heterogénea, 23 distritos dentro de Lima Metropolitana, Perú.

El cálculo del tamaño muestral se determinó según la siguiente ecuación estadística para proporciones poblacionales, considerando una población total de gatos en Lima Metropolitana de 627515 individuos según lo reportado por CPI (2016) sobre la preferencia de estos animales en hogares, el número de hogares en Lima Metropolitana el año que se realizó el muestreo (CPI, 2017), una heterogeneidad del 17.9% de acuerdo a la prevalencia reportada por Castillo *et al.* (2012), un error del 7% y un intervalo de confianza del 95% ($Z=1.96$).

$$n = \frac{Z^2(p \times q)}{e^2 \left(\frac{Z^2(p \times q)}{N} \right)}$$

A cada gato se le tomó una muestra de sangre de la vena cefálica, la misma que fue posteriormente procesada para la obtención de sueros. Las muestras de sueros fueron almacenadas a -20°C hasta su uso, en un banco de sueros ubicado en el Laboratorio de Parasitología de Fauna Silvestre y Zoonosis, FCB-UNMSM.

La participación como donante fue exclusivamente voluntaria por parte del dueño, quien previa firma de un consentimiento informado fue encuestado sobre datos de la mascota, incluyendo las variables sexo, edad, raza, alimentación, acceso a la calle y hábitos de caza (Anexo 1)

5.2 Técnica de ELISA indirecto para la detección de anticuerpos IgG en gatos

Inicialmente se obtuvo como donación el antígeno de *Toxoplasma gondii* proveniente del lisado (TLA) de la cepa RH a partir del cultivo de los taquizoítos en la línea celular LLC MK-2 (células epiteliales de riñón de mono Rhesus), con posterior sonicación y cuantificación de proteínas por el método de Bradford.

La técnica se desarrolló siguiendo el protocolo que se presenta a continuación:

Se sensibilizó la placa con 100 µl por pocillo (1 µg/ml) del antígeno de *T. gondii* (TLA) en Buffer Bicarbonato-Carbonato 0.05M. Se incubó *overnight* (18 horas) a 4°C. Pasado este tiempo, se procedió a lavar la placa cinco veces con 200 µl por pocillo de PBS-Tween 0.05%, sin intervalos de incubación. Una vez culminada la anterior etapa, se adicionó a cada pocillo 170 µl de PBS-Tween 0.05% + 5% de leche descremada para el bloqueo de la placa. Se incubó por una hora y media a temperatura ambiente en agitación. Se procedió a lavar la placa como se describe anteriormente. Se agregó por duplicado 100 µl de los sueros control y sueros problema diluidos a 1:50 en PBS-Tween 0.05%-Leche 1% y se incubó a 37°C por una hora. Luego se lavó cinco veces con PBS-Tween 0.05% con intervalos de agitación de cuatro minutos. A cada pocillo se le adicionó 100 µl de conjugado anti IgG de gato marcado con peroxidasa (HRP) diluido a 1:1500 en PBS-Tween 0.05% para posteriormente incubarse a 37°C por una hora. Se realizaron tres lavados con PBS-Tween y dos con PBS con los intervalos de tiempo de agitación de acuerdo al protocolo. El revelado se logró con la adición a cada pocillo de 100 µl de solución cromógena (Tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno en volúmenes iguales) por seis minutos, para luego detener la reacción por adición de 50 µl por pocillo de ácido sulfúrico 2M. Finalmente, se registraron las absorbancias haciendo uso de un lector de ELISA a 450 nm de longitud de onda. Se reportó como positivas a las muestras que presentaron valores superiores al punto de corte obtenido a partir de la suma

de promedios de los controles negativos más tres veces la desviación estándar de los mismos (Crowther, 2009).

Los controles positivos y negativos utilizados se obtuvieron como donación de parte del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, los cuales previamente fueron confirmados por el *kit* comercial de diagnóstico por Hemaglutinación indirecta (HAI) TOXO-HAI (Analisa, Belo Horizonte), habiéndose reportado su uso en gatos por Cerro *et al.* (2014) en el Perú.

5.3 Técnica de ELISA de avidez de anticuerpos IgG en gatos

Para evaluar la avidez de anticuerpos se realizó la misma técnica de ELISA con una modificación. Se reemplazaron los tres primeros lavados con PBS-Tween posteriores a la incubación de los sueros por PBS-Tween más urea 6M con intervalos de cinco minutos y se continuaron los pasos descritos anteriormente (Ashburn *et al.*, 1998; Rahbari *et al.*, 2012). El índice de avidez (IA%) se determinó el resultado del cociente de las absorbancias obtenida de los pocillos lavados con PBS-Tween-Urea (U^+) y los lavados con PBS-Tween (U^-) a 450 nm multiplicados por 100, mediante fórmula $IA\% = U^+ / U^- \times 100$. Este ensayo sólo fue aplicado a las muestras previamente identificadas como positivas. De acuerdo a estos datos, se consideraron baja ($IA < 50\%$), intermedia o *borderline* ($50\% < IA < 60\%$) y alta avidez ($IA > 60\%$) de anticuerpos (Rahbari *et al.* 2012). Según estos valores, los gatos fueron catalogados como individuos con infección reciente o tardía al momento de la evaluación.

5.4. Análisis estadístico

La asociación entre factores de riesgo y la presencia de infección fue determinada mediante las pruebas estadísticas de Chi cuadrado y test exacto de Fisher mediante el programa IBM SPSS Statistics versión 19, rechazando la hipótesis nula que afirma que las variables son independientes si el nivel de significación es menor de 0.05 ($p < 0.05$). Además, se utilizó en cada factor de riesgo la razón de momios, llamada también *Odds ratio* (OR) para estimar las probabilidades de seropositividad por *T. gondii* de la categoría de mayor frecuencia con respecto a la de menor en una un sistema binario, dándole el valor relativo de 1 a esta última.

Para la estimación de la sensibilidad y especificidad del ELISA indirecto convencional desarrollado en este estudio, se seleccionaron 30 muestras considerando los valores de absorbancia y la cercanía al punto de corte en esta prueba. Posteriormente fueron analizadas mediante el *kit* comercial de HAI ToxoTest HAI de Wiener Lab siguiendo el protocolo descrito en el mismo (Wiener Lab, 2000), el cual fue utilizado por Cerro *et al.* (2009) en gatos de Lima, Perú. De esta manera, al compararse los resultados entre ambas pruebas pudieron evaluarse la sensibilidad y especificidad relativas de la prueba de ELISA mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{Sensibilidad (\%)} = \frac{VP}{(VP+FN)} \times 100\% \quad \dots(*)$$

$$\text{Especificidad (\%)} = \frac{VN}{(VN+FP)} \times 100\% \quad \dots(*)$$

(*) VP: verdadero positivo; VN: verdadero negativo; FP: falso positivo; FN: falso negativo

5.5. Consideraciones éticas

El presente trabajo de tesis contó con la aprobación del Comité Institucional de Ética para el uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, con código de inscripción 102372 (Anexo 2).

6. RESULTADOS

6.1 ELISA indirecto IgG

Fueron detectados anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en 29 de un total de 118 individuos muestreados, resultando en una frecuencia del 24.6% ($\pm 7.8\%$). Con respecto al *kit* comercial de HAI utilizado, la prueba desarrollada alcanzó valores de sensibilidad y especificidad relativas de 100% y 78.3%, respectivamente. Se encontró asociación significativa ($p < 0.05$) entre la positividad a la prueba de ELISA y las variables edad ($p = 0.02$), alimentación ($p = 0.04$), acceso a la calle ($p = 0.02$) y hábitos de caza ($p = 0.05$) (Tabla 1).

En cuanto a los individuos seropositivos para *T. gondii*, el factor edad presentó mayor frecuencia de anticuerpos en los gatos mayores de un año (25/82, 30.5%), obteniendo un *Odds ratio* (OR) de 3.51 con respecto a los menores (4/36, 11.1%). La dieta mixta de la mascota, que incluye alimento casero y/o carnes poco cocidas o crudas, obtuvo un OR de 2.63 con una frecuencia de 38.2% frente a una alimentación con productos comerciales exclusivamente (19%). Los gatos con acceso a la calle (13/31, 41.9%), generaron un OR de 3.56 en relación a los de acceso restringido (13/77, 16.9%). Los factores sexo y raza mostraron los valores no significativos de 0.53 y 1.00, respectivamente, en donde los machos (27%) con respecto a las hembras (21.8%) obtuvieron un OR de 1.32; los gatos de raza pura (25%) no evidenciaron diferencias (OR=1.03) frente a los mestizos (24.5%).

El factor hábitos de caza se situó en un valor límite de asociación con la seropositividad para *T. gondii* de 0.05, con una mayor frecuencia en gatos cazadores (6/19, 31.6%) que en no cazadores (16/84, 19%) con un OR de 1.96 para los primeros. Interesantemente, los animales que figuraban en la categoría 'No determinado', alcanzaron una frecuencia de 46.7% (7/15). Estos últimos casos

correspondían a gatos que fueron adoptados en edad adulta y/o ante una duda expresa del dueño sobre el conocimiento de este hábito en su mascota (Tablas 1 y 2).

6.2 ELISA de avidéz IgG

De las 29 muestras positivas ensayadas, el 100% tuvo índices de avidéz (absorbancia a 450 nm del ELISA de avidéz entre la absorbancia del ELISA indirecto convencional) mayores del 60%, lo que corresponde a una alta avidéz de anticuerpos IgG y a su vez a infecciones tardías. La variación del índice tomó valores entre el 66.62% (valor más bajo) y 99.87% (valor más alto) (Tabla 3).

Tabla 1: Frecuencia de infecciones por *Toxoplasma gondii* según las variables sexo, edad, alimentación, raza, acceso a la calle y hábitos de caza, y su significancia estadística por las pruebas de Chi cuadrado y Test exacto de Fisher. Lima, 2017-2018.

Variable	Total (n)	Positivos		Significancia (p<0.05)
		N°	%+IC _{95%}	
Sexo	118	29	24.6%±7.8%	
- Macho	63	17	27.0%±11.0%	0.53 ^a
- Hembra	55	12	21.8%±10.9%	
Edad				
- Menor de un año	36	4	11.1%±10.2%	0.02 ^b
- Entre uno y siete años	64	17	26.6%±10.9%	
- Mayor de siete años	18	8	44.4%±22.9%	
Alimentación				
- Exclusivamente alimento comercial	84	16	19.0%±8.4%	0.04 ^a
- Mixta*	34	13	38.2%±16.3%	
(*) : Incluye carnes crudas o poco cocidas y/o alimentación casera				
Raza				
- Pura	16	4	25.0%±21.2%	1.00 ^a
- Mestiza	102	25	24.5%±8.3%	
Acceso a la calle				
- Sí	31	13	41.9%±17.4%	0.02 ^b
- No	77	13	16.9%±8.4%	
- No determinado*	10	3	30.0%±28.4%	
(*) : Aplica para gatos que han sido adoptados o comprados adultos y se desconocen sus hábitos anteriores				
Hábitos de caza				
- Sí	19	6	31.6%±20.9%	0.05 ^b
- No	84	16	19.0%±8.4%	
- No determinado*	15	7	46.7%±25.3%	
(*) : Aplica para gatos que han sido adoptados o comprados adultos y se desconocen sus hábitos anteriores o ante una duda expresa del dueño				

(^a): Prueba de independencia por Test exacto de Fisher

(^b): Prueba de independencia por Chi cuadrado

Tabla 2: *Odds ratio* de infección por *T. gondii* de las categorías de mayor riesgo dentro de las variables estudiadas y rango de valores de OR con un intervalo de confianza del 95%. Lima, 2017-2018.

Variable	Total (n)	Positivos N°	Odds ratio (OR)	IC_{95%} (Rango OR)
Sexo				
- Macho	63	17	1.32	(0.57; 3.08)
- Hembra	55	12	1	
Edad^a				
- Menor de un año	36	4	1	
- Mayor de un año	82	25	3.51*	(1.12; 10.98)
Alimentación				
- Exclusivamente comercial	84	16	1	
- Mixta	34	13	2.63*	(1.09; 6.34)
Raza				
- Pura	16	4	1.03	(0.30; 3.48)
- Mestiza	102	25	1	
Acceso a la calle^b				
- Sí	31	13	3.56*	(1.40; 9.02)
- No	77	13	1	
Hábitos de caza^b				
- Sí	19	6	1.96	(0.65; 5.95)
- No	84	16	1	

(a): Las categorías 'Entre uno y siete años' y 'Mayor de siete años' fueron agrupadas en la categoría 'Mayor de un año'. (b): Fue omitida la categoría 'No determinado'. (*): Variables con asociación significativa por prueba de independencia ($p < 0.05$).

Tabla 3: ELISA de Aidez: Comparación de absorbancias de acuerdo al tratamiento e índice de aidez (IA%). Lima, 2017-2018.

N° de muestra	Absorbancia (Abs _{450nm})		IA %
	ELISA IgG	ELISA de aidez IgG	
1	0.993	0.798	80.36%
2	1.275	1.183	92.78%
3	0.729	0.620	85.05%
4	0.754	0.602	82.58%
5	0.529	0.459	86.77%
6	0.631	0.499	79.08%
7	1.041	0.966	92.80%
8	0.711	0.603	84.81%
9	1.186	0.964	81.28%
10	0.677	0.451	66.62%
11	0.428	0.339	79.21%
12	0.666	0.554	83.18%
13	1.284	1.227	95.56%
14	1.002	0.867	86.53%
15	0.444	0.372	83.78%
16	1.281	1.253	97.81%
17	0.395	0.323	81.77%
18	0.670	0.494	73.73%
19	0.676	0.498	73.67%
20	0.831	0.687	82.67%
21	1.297	1.067	82.27%
22	1.371	1.316	95.99%
23	0.312	0.298	95.51%
24	0.750	0.577	76.93%
25	0.851	0.848	99.65%
26	0.985	0.834	84.67%
27	0.874	0.752	86.04%
28	0.417	0.395	94.72%
29	1.565	1.563	99.87%

7. DISCUSIÓN

La frecuencia de anticuerpos IgG anti *T. gondii* encontrada en el presente estudio (24.6%) con un intervalo de confianza del 95%, se encuentra entre los valores de 16.8% y 32.4%, en concordancia a los valores reportados en gatos domésticos en Lima por Cerro *et al.* en 2009 (11.2%±4.6% por HAI y 17.9%±5.6% por IFI), Castillo *et al.* en 2012 (17.9%±7.3% por HAI) y Cerro *et al.* en 2014 (11%±4.9% por HAI); no obstante, se evidencia un incremento de la prevalencia en la capital peruana. Estos resultados, además de explicarse con el aumento de la prevalencia, el uso de una prueba serológica de mayor sensibilidad (ELISA) que la Hemaglutinación indirecta en la detección de anticuerpos contra este parásito (Gardner *et al.*, 2010) utilizada en los últimos años, reduciría la pérdida de casos positivos y aumentaría el valor de esta frecuencia.

La edad del gato representa uno de los factores que más han sido descritos en los reportes de seroprevalencia de *T. gondii*. Estudios en todo el mundo han demostrado que la seropositividad aumenta significativamente con la edad (Dubey *et al.*, 2002; Miró *et al.*, 2004; Besné-Mérida *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2008; Sharif *et al.*, 2009; Ding *et al.*, 2017). Esta tendencia se ha manifestado en el presente estudio claramente, de manera más notoria en los extremos de los grupos etarios, con frecuencias que alcanzan el cuádruple del valor entre ellas (11.1% y 44.4% para gatos menores de un año y mayores de siete años, respectivamente), teniendo en cuenta que el riesgo de exposición al parásito es directamente proporcional al tiempo de vida, presentándose mayores ocasiones para tener contacto y generar anticuerpos contra este, en concordancia con Lopes *et al.* (2008); además, los gatos al aumentar la edad y alcanzar la madurez sexual, sobre todo los no castrados, tienden a salir de las casas donde son criados, estar expuestos a ooquistes en el ambiente fuera de ellas y tener mayor contacto con individuos de su misma especie, factor no contemplado en este estudio, pero que ha sido reportado en el trabajo citado

anteriormente como uno de riesgo, con frecuencias de 39.4% frente a 3.8% que no estuvieron en contacto con otros gatos.

La alimentación mixta, es decir, aquella que incluye carnes poco cocidas o crudas y/o alimento casero, obtuvo un *Odds ratio* de 2.63 con respecto a la dieta exclusiva de las mascotas con alimento comercial enlatado o seco, lo que se interpreta como 2.63 veces mayor probabilidad de haber producido anticuerpos contra *T. gondii* que los gatos alimentados con productos comerciales. Esta propensión se debe al riesgo que tienen de adquirir la infección por la ingesta de quistes tisulares presentes en la carne de hospederos intermediarios no cocida o que no se ha hecho completamente, más aun cuando en Lima, sobre todo en distritos populosos, se tiene la costumbre de alimentar a los gatos con vísceras principalmente de res y pollo, y con las cabezas de estos últimos, donde se reporta una prevalencia de 28% en el distrito de San Juan de Miraflores por Dubey *et al.* (2004a). Estos quistes tisulares presentes en carnes contaminadas conteniendo bradizoítos son de gran infectividad en gatos, lo que deriva en la producción de millones de ooquistes excretados al ambiente (Dubey, 2001). La importancia de este factor se ha visto reflejada en dos de los estudios hechos en gatos en Lima, resaltando la mayor frecuencia de infección en mascotas que consumieron alimento casero (24.2%, OR= 4.27) que las alimentadas a base de concentrados comerciales (7.5%) descrita por Castillo *et al.* en 2012; así también, Cerro *et al.* en 2014 encontraron que los animales alimentados con carnes crudas obtuvieron una frecuencia de anticuerpos del 50%, seis veces el valor de la encontrada en los consumidores de alimento comercial. De la misma manera, esta asociación significativa ha sido reportada por Besné-Mérida *et al.* en Ciudad de México en 2008, siendo la inclusión de carnes crudas a la dieta de sus mascotas juega un rol muy importante, con un valor de OR muy similar al encontrado en el presente estudio para la

dieta mixta; Lopes *et al.* (2008) en Portugal, por su parte, registró 53.5% de seropositividad en gatos alimentados con carnes poco cocidas frente al alimento comercial (22.9%).

El acceso a la calle considerado como factor de riesgo a *T. gondii* en el presente estudio se asocia al contacto con el parásito a través de la contaminación con ooquistes que se hacen infectivos en el ambiente, los que se producen por millones en un solo individuo (Dubey, 2001). Si bien son menos infectivos para el gato que los bradizoítos, representan una vía importante de infección (Dubey, 1996).

Como se menciona anteriormente, aunada a la edad se presenta la tendencia a salir del lugar seguro que supone el hogar de crianza, el contacto con otros gatos como factor de riesgo adicional y la posibilidad de captura de presas pequeñas. El conjunto de todas estas posibilidades convergen en los resultados obtenidos en este trabajo. Resultados respaldados por estudios como el de Dubey *et al.* (2002) en zonas rurales de Ohio, Estados Unidos, donde los gatos ferales tuvieron una prevalencia mayor a los domiciliados; en gatos únicamente domiciliados, los datos reportados en Brasil por Dalla Rosa *et al.* (2010) registraron prevalencias más altas en gatos con acceso a la calle o zonas rurales (14.93%) que en los que permanecen con su dueño constantemente (4.44%), así como Lopes *et al.* (2008) en Portugal (45.4% frente a 7.7%), y Cerro *et al.* (2014) en la capital peruana (17% contra 8.4%). Pese a que las prevalencias pueden variar según la localización, ya sea entre países e incluso dentro del mismo, se presenta una tendencia a aumentar en estudios hechos en gatos callejeros con respecto trabajos en domiciliados (Braga *et al.* en 2012 (50.5%) y Fournier *et al.* en 2014 (52.8%) frente a los estudios de Cruz *et al.* en 2011 (16.3%) y Dalla Rosa *et al.* en 2010 (14.33%) en Brasil).

Los hábitos de caza al estar asociados a la ingesta de quistes tisulares presentes en la carne de las presas infectadas constituyen un factor importante en la producción de anticuerpos contra *T. gondii* en estudios de seroprevalencia (Cerro *et al.*, 2014; Must *et al.*, 2015). Si bien los resultados obtenidos en el presente trabajo evidenciaron mayor frecuencia en gatos cazadores (31.6%) que en no cazadores (19%) con *Odds ratio* de 1.96 para los primeros, en la prueba de independencia se alcanzó un valor límite de asociación de $p=0.05$, siendo considerados valores menores a 0.05 como significativos. Esto se estaría dando debido a que se consideró en la categoría 'No determinado' a gatos en su mayoría adoptados provenientes de la calle en edad adulta, edad en la que ya es común cazar, más aun frente a una baja disponibilidad de alimento (van Heezik *et al.*, 2010). Esta pérdida de datos resulta en una imprecisa estimación de la asociación y *Odds ratio* de este factor, más aun cuando esta categoría presentó la más alta frecuencia de anticuerpos contra el parásito (7/15, 46.7%). Sumado a esto, una respuesta negativa del dueño al no presenciar el hecho aun cuando su mascota pudo haber cazado y adquirido la infección, contribuiría a afectar positivamente el valor p de significación, pudiéndose interpretar como no asociado significativamente. Aun con todo lo anterior, los resultados obtenidos en este estudio evidencian la importancia de este factor en la seroprevalencia de la infección por *T. gondii*.

Dados los presentes resultados, el sexo de la mascota, tal como se esperaba, no implica asociación significativa en la adquisición de anticuerpos anti *T. gondii*, donde numerosos estudios respaldan este hecho (Ovalle *et al.*, 2000; Netto *et al.*, 2003; Pena *et al.*, 2006; García-Márquez *et al.*, 2007; Cruz *et al.*, 2011; Cerro *et al.*, 2014). No obstante, se reporta que hembras podrían estar más expuestas que machos de manera significativa (Besné-Mérida *et al.*, 2008), donde el autor de este último sugiere que fenómenos endocrinos y genéticos estarían relacionados.

Al igual que los resultados del presente trabajo, Miró *et al.* (2004) encontraron, de manera no significativa, una mayor frecuencia en machos que en hembras. Si bien no existe asociación directa a este factor, en algunos hogares peruanos se opta por castrar o esterilizar únicamente a las hembras por el hecho que supone económicamente que esta tenga crías, sugiriéndose que lo observado estaría relacionado al comportamiento de los machos no castrados durante el celo de salir del domicilio donde son criados (en gatos no confinados), exponiéndolos a la contaminación ambiental con ooquistes.

Según los resultados obtenidos, no se ha presentado asociación entre la raza del gato y la seropositividad contra el parásito estudiado, en concordancia con García-Márquez *et al.* (2007) y Lopes *et al.* (2008), quienes no encontraron asociación significativa entre siameses frente a no siameses y razas puras no europeas con respecto a europeas o mestizos, respectivamente. Contrario a esto, Must *et al.* (2015) encontraron que los gatos mestizos son más propensos que los raza pura a la infección por *T. gondii*. Además, mediante un estudio enfocado en la seroprevalencia de *T. gondii* en gatos en función a su raza, se encontró la mayor frecuencia en persas (60%) y la menor en burmeses (18.82%) (Must *et al.*, 2017).

La muestra tomada en el presente estudio estaba conformada por más de 85% de gatos mestizos, por lo que un mayor número y variedad de individuos según su raza sería necesario para estimar el impacto y significancia de este factor de manera más precisa.

La evaluación de la avidez en este estudio comprende en su totalidad infecciones de avidez alta (100% de los individuos), manifestando fuertes interacciones entre los antígenos de *Toxoplasma* y el antisuero de estas mascotas, por lo que se sugiere que este fenómeno se explica mediante la mayor probabilidad de encontrarse en fase crónica que en aguda al momento de ser tomada la muestra, debido a la corta duración de esta última, donde los anticuerpos IgM ocupan un rol de mayor importancia por sobre los IgG, con respuestas más rápidas pero menos específicas (Grandía *et al.*, 2013).

El protocolo realizado proviene de una modificación del ELISA estandarizado en el presente trabajo, el cual presenta diferencias mínimas con respecto al descrito por Rahbari *et al.* (2012), sin embargo, este último, incluyendo los valores de índice de avidéz, ha sido diseñado para humanos para el diagnóstico de toxoplasmosis aguda y crónica mediante la previa confirmación de la fase de infección, consiguiendo demostrar su validez. Por esta razón, aun cuando puedan aplicarse en este modelo, se toman los resultados como infecciones recientes o tardías, ya que no pueden ser definidas como agudas o crónicas a menos que se confirmen mediante la presencia de anticuerpos IgM como complemento del ELISA IgG, donde un examen coproparasitológico podría también ser útil a pesar de sus limitaciones.

El valor de seroprevalencia hallado en el presente estudio corresponde al tercio inferior mundial según la recopilación de estudios en gatos domésticos entre los años 1988 y 2008 realizada por Dubey (2010), reportando valores que fluctúan entre 2.1% y 89.3%. Sin embargo, la cifra obtenida podría aumentar en poblaciones vulnerables como gatos callejeros o pertenecientes a albergues en Lima Metropolitana, e incluso a través del tiempo en gatos domiciliados, dependiendo en gran manera de los hábitos de crianza que impliquen un riesgo para la adquisición de la infección de estos animales por parte de los dueños.

Por todo lo anteriormente expuesto, la prueba de ELISA IgG resulta una herramienta útil en el estudio epidemiológico del hospedero definitivo del parásito causante de la toxoplasmosis, debiendo ser implementada para estos fines en el Perú, dando lugar a una mejor comprensión de su situación y del riesgo que conlleva en salud pública.

8. CONCLUSIONES

- La seroprevalencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en gatos domiciliados de Lima Metropolitana mediante el uso de la técnica de ELISA es de $24.6 \pm 7.8\%$ (I.C. 95%: 16.8% - 32.4%), representando un leve incremento de esta con respecto a los reportes realizados anteriormente y a su vez perteneciendo al tercio inferior mundial.
- Se presentó mayor frecuencia de anticuerpos IgG anti *T. gondii* en gatos de edades avanzadas, con dieta que incluye carnes crudas o poco cocidas y alimento casero, con acceso a la calle y cazadores, siendo estos factores de asociación significativa ($p < 0.05$).
- Los elevados índices de avidez (IA%: 66.62% - 99.87%) de los anticuerpos anti *T. gondii* de los gatos estudiados mediante la prueba de ELISA sugieren que presentan en su totalidad infecciones tardías.

9. RECOMENDACIONES

- Profundizar la investigación mediante una toma de muestra que incluya la variedad de factores a estudiar para una correcta y precisa estimación de su influencia, así como ser representativa dentro del área estudiada.
- Con la finalidad de alcanzar uniformidad de resultados entre ensayos y garantizar las mismas condiciones, se recomienda trabajar la mayor cantidad posible de muestras por ensayo, utilizar un mismo lote de antígeno y garantizar las óptimas condiciones de su almacenamiento, debido a su sensibilidad a la degradación.
- Se genera la necesidad de realizar un estudio enfocado en los estados de infección en casos confirmados mediante pruebas de IgM e IgG y su avidez en esta población para la continuación y ampliación de este trabajo, en donde se tomen los valores de índice de avidez (IA%) como indicadores de infecciones agudas o crónicas en gatos domésticos. De la misma manera, se pueden derivar trabajos a partir de las ideas generadas en esta investigación, que estudien la correlación entre el IA% y la progresión de la infección por *T. gondii* en gatos mediante infección experimental, así como la seroprevalencia de toxoplasmosis en gatos callejeros, lo que ampliaría el panorama de la situación de esta parasitosis en el Perú, vista desde el rol del hospedero definitivo.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHBURN, D.; JOSS, A. W. L.; PENNINGTON, T. H. y HO-YEN, D. O. Do IgA, IgE, and IgG avidity tests have any value in the diagnosis of *Toxoplasma* infection in pregnancy? *Journal of Clinical Pathology*. 1998, vol. 51, p. 312–315.
- AZEVEDO, S. S.; PENA, H. F. J.; ALVES, C. J.; FILHO, A. A. M. G.; OLIVEIRA, R. M.; MAKSIMOV, P., SCHARES, G. y GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2010, vol. 19, nº 2, p. 80-84.
- BASSO, W.; MORÉ, G.; QUIROGA, M. A.; Pardini, L.; BACIGALUPE, D.; VENTURINI, L.; VALENZUELA, M. C.; BALDUCCHI, D.; MAKSIMOV, P.; SCHARES, G. y VENTURINI, M. C. Isolation and Molecular Characterization of *Toxoplasma gondii* from Captive Slender-Tailed Meerkats (*Suricata Suricatta*) with Fatal Toxoplasmosis in Argentina. *Veterinary Parasitology*. 2009, vol. 161, p. 201–206.
- BESNÉ-MÉRIDA, Alejandro; FIGUEROA-CASTILLO, Juan Antonio; MARTINEZ-MAYA, José Juan; LUNA-PASTÉN, Héctor; CALDERÓN-SEGURA, Esther y CORREA, Dolores. Prevalence of Antibodies against *Toxoplasma gondii* in Domestic Cats from Mexico City. *Veterinary Parasitology*. 2008, vol. 157, p. 310–13.
- BRAGA, Maria do Socorro Costa de Oliveira; ANDRÉ, Marcos Rogério; GOMES JUSI, Márcia Mariza; FRESCHI, Carla Roberta, ALVES TEIXEIRA, Márcia Cristina y ZACARÍAS MACHADO, Rosangela. Occurrence of anti- *Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in cats with outdoor access in São Luís, Maranhão, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2012, vol. 21, nº 2, p. 107–111.

- CÁCEDA SÁNCHEZ, Ricardo; SEAS RAMOS, Carlos; ECHEVARRÍA ZÁRATE, Juan; SAMALVIDES CUBA, Frine; LEÓN ROJAS, Yolanda y GOTUZZO HERENCIA, Eduardo. Toxoplasmosis Cerebral En Pacientes Con SIDA En El Hospital Nacional Cayetano Heredia Entre 1989 Y 1999. *Revista Médica Herediana*. 2000, vol. 11, n°1, p. 15–21.
- CALDERÓN, Maritza; MADICO, Guillermo; GILMAN, Robert; MONTENEGRO, Teresa; CASTILLO, Rosa y MIRANDA, Elba. "Detección de anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* en tres áreas geográficas del Perú por IFI, ELISA Y EITB". En: *X CONABIOLOGIA PERU*. Lima, Perú. 1992.
- CASTILLO, Lisset; NOÉ, Norma; FALCÓN, Néstor y CHÁVEZ, Amanda. Tipos de crianza de felinos domésticos como factor de riesgo para la presentación de infección por *Toxoplasma gondii*." *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*. 2012, vol. 23, n°4, p. 448–53.
- CEDILLO-PELÁEZ, Carlos. "Determinación de Genotipos de *Toxoplasma gondii* En Fauna Silvestre de México". Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 2009.
- CEDILLO-PELÁEZ, Carlos; RICO-TORRES, Claudia Patricia; SALAS-GARRIDO, Carlos Gerardo y CORREA, Dolores. Acute Toxoplasmosis in Squirrel Monkeys (*Saimiri Sciureus*) in Mexico. *Veterinary Parasitology*, 2011, vol. 180, p. 368–71.
- CERRO, Luis; RUBIO, Alicia; PINEDO, Rosa; MENDES-DE-ALMEIDA, Flavya; BRENER, Beatriz y LABARTHE, Norma. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Cats (*Felis catus* , Linnaeus 1758) Living in Lima, Peru. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*. 2014, vol. 23, n°1, p. 90–93.

- CERRO, Luis; CHÁVEZ, Amanda; CASAS, Eva; SUÁREZ, Francisco y RUBIO, Alicia. Frecuencia de *Toxoplasma gondii* En Gatos de Lima Metropolitana Y Concordancia Entre Las Técnicas de Inmunofluorescencia Indirecta Y Hemaglutinación Indirecta. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*. 2009, vol. 20, n° 2, p. 285–90.
- CHANG, Katty; CHÁVEZ Amanda; LI Olga; FALCÓN, Néstor; CASAS, Eva y CASAS, Gina. Seroprevalencia De *Toxoplasma gondii* En Llamas Hembras De La Sierra Central Del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*. 2009, vol. 20, n°2, p. 306–11.
- COMPAÑÍA PERUANA DE ESTUDIOS DE MERCADOS Y OPINIÓN PÚBLICA S.A.C.(CPI). *Perú: Población 2017. Market report N°7* . 2017.Disponible en internet:<http://cpi.pe/images/upload/paginaweb/archivo/26/mr_poblacion_peru_2017.pdf>
- COMPANÍA PERUANA DE ESTUDIOS DE MERCADOS Y OPINIÓN PÚBLICA S.A.C. (CPI). *Encuesta de presencia de mascotas en el hogar en Lima Metropolitana*. 2016. Disponible en internet: <http://cpi.com.pe/filestore/mascotas_201610.pdf>
- CORNEJO, Alberto; CUBAS, Edgardo; GONZÁLES, José; PILARES, Rubén y NÁQUIRA, Frida. Toxoplasmosis En Pacientes Del Hospital Obrero de Lima. *Anales de La Facultad de Medicina de La Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. 1971, vol. 54, n°1, p. 58–71.
- CORTÉS, Liliana Jazmín y MANCERA, Lorena. Concordancia entre ELISA e IFI para la determinación de anticuerpos tipo IgG contra *Toxoplasma gondii*. *Infectio*. 2009, vol. 13 , n° 2 , p. 76-82.
- CROWTHER, John. R. *The ELISA Guidebook*. 2^{da} ed. Viena, Austria: Humana Press, 2009. 566 p. ISBN. 978-1603272537

- CRUZ, Marúcia de Andrade; ULLMANN, Leila Sabrina; MONTAÑO, Patrícia Yukiko, HOFFMANN, Juliano Leônidas; LANGONI, Helio y BIONDO, Alexander.
Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cats from Curitiba, Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2011, vol. 20, nº.3, p. 256–258.
- DALLA ROSA, Luciana; BARBOSA DE MOURA, Anderson; TREVISANI, Natascha; PEREIRA MEDEIROS, Alessandra; APARECIDA SARTOR, Amélia; PEREIRA DE SOUZA, Antonio y BELLATO, Valdomiro. *Toxoplasma gondii* antibodies on domiciled cats from Lages municipality, Santa Catarina State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2010, vol. 19, nº4, p. 268–269.
- DARD, Céline; FRICKER-HIDALGO, Héléne; BRENIER-PINCHART, Marie-Pierre y PELLOUX, Hervé. Relevance of and New Developments in Serology for Toxoplasmosis. *Trends in Parasitology*. 2016, vol. 32, nº 6, p. 492-506.
- DeFEO, Monica L.; DUBEY, J. P.; MATHER, Thomas N. y RHODES, Richard C. III. Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. *American Journal of Veterinary Research*. 2002, vol. 63, nº 12, p. 1714–1717.
- DING, H.; GAO, Y. M.; DENG, Y.; LAMBERTON, P. H. y LU, D. B. A systematic review and meta-analysis of the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cats in mainland China. *Parasites & vectors*. 2017, vol. 10, nº 1.
- DUBEY, J. P.; HOOVER, E. A. y WALLS, K. W. Effect of Age and Sex on the Acquisition of Immunity to Toxoplasmosis in Cats*. *The Journal of Protozoology*. 1977, vol. 24, nº1, p. 184–186.
- DUBEY, J. P. y CARPENTER, J. L. Histologically confirmed clinical toxoplasmosis in cats: 100 cases (1952–1990). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1993, vol. 203, p. 1556–1566.

- DUBEY, J. P. Duration of Immunity to Shedding of *Toxoplasma gondii* Oocysts by Cats. *Journal of Parasitology*. 1995, vol. 81, n°3, p. 410–415.
- DUBEY, J. P. Infectivity and Pathogenicity of *Toxoplasma gondii* Oocysts for Cats. *The Journal of Parasitology*. 1996, vol. 82, n° 6, p. 957–961.
- DUBEY, J. P. Oocyst Shedding by Cats Fed Isolated Bradyzoites and Comparison of Infectivity of Bradyzoites of the VEG Strain *Toxoplasma gondii* to Cats and Mice. *Journal of Parasitology*. 2001, vol 87, n°1, p. 215–219.
- DUBEY, J. P.; SAVILLE, W. J. A.; STANEK, J. F. y REED, S. M. Prevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Domestic Cats From Rural Ohio. *The Journal of Parasitology*. 2002, vol. 88, n° 4, p. 802–803.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis - A Waterborne Zoonosis. *Veterinary Parasitology*. 2004, vol. 126, p. 57–72.
- DUBEY, J. P.; LEVY, M. Z.; SREEKUMAR, C.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K.; DAHL, E.; THULLIEZ P. y LEHMANN, T. Tissue Distribution and Molecular Characterization of Chicken Isolates of *Toxoplasma gondii* from Peru. *The Journal of Parasitology*. 2004a, vol. 90, n° 5, p. 1015-1018.
- DUBEY, J. P., NAVARRO, I. T.; SREEKUMAR, C.; DAHL, E.; FREIRE, R. L. ; KAWABATA, H. H.; VIANNA, M. C. B.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K.; THULLIEZ, P. y LEHMANN, T. *Toxoplasma gondii* Infections In Cats From Parana Seroprevalence, Tissue Distribution, and Biologic and Genetic Characterization Of Isolates. *Journal of Parasitology*. 2004b, vol. 90, n°4, p. 721–26.
- DUBEY, J. P. The History of *Toxoplasma gondii* - The First 100 Years. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2008, vol. 55, n° 6, p. 467–75.
- DUBEY, J. P. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*. 2^{da} ed. Florida, USA: CRC Press, 2010.

- ELMORE, Stacey A.; JONES, Jeffrey L.; CONRAD, Patricia A.; PATTON, Sharon; LINDSAY, David S. y DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: Epidemiology, Feline Clinical Aspects, and Prevention. *Trends in Parasitology*. 2010, vol. 26, n°4, p. 190–96.
- ELSHEIKA, H. M. Congenital toxoplasmosis: priorities for further health promotion action. *Public Health*. 2008, vol. 122, n° 4, p. 335-353.
- EZA, D.; CERRILLO, G.; MOORE, D. A.; CASTRO, C.; MORALES, D.; CABANILLAS, J.; BARRANTES, F.; ALFARO, A.; BENAVIDES, A.; RAFAEL, A.; VALLADARES, G; AREVALO, F; EVANS, C. A. Y GILMAN, R. H. Resultados post mórtem e infecciones oportunistas en pacientes VIH-positivos de un hospital público del Perú*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 2006, vol. 23, n°4, p. 270–74.
- FAYER, Ronald; DUBEY, Jitender P. y LINDSAY, David S. Zoonotic Protozoa: From Land to Sea. *Trends in Parasitology*. 2004, vol. 20, n° 11, p. 531–36.
- FOURNIER, Gislene Fátima da Silva Rocha; GOMES LOPES, Marcos; MARCILI, Arlei; GARCÍA RAMÍREZ, Diego; ACOSTA, Igor Cunha Lima; FERREIRA, Juliana Isabel Giuli da Silva; DINIZ CABRAL, Aline; RIBEIRO de LIMA, Júlia Tereza; PENA, Hilda Fátima de Jesús; DIAS, Ricardo Augusto y GENNARI, Solange Maria. *Toxoplasma gondii* in domestic and wild animals from forest fragments of the municipality of Natal, northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2014, vol. 23, n°4, p. 501–508.
- GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L. y OLIVEIRA, R. C. de. Soroepidemiologia Da Toxoplasmose Em Gatos E Cães De Propriedades Rurais Do Município De Jaguapitã, Estado Do Paraná, Brasil. *Ciência Rural*. 1999, vol. 29, n°1, p. 99–104.

- GARCÍA-MÁRQUEZ, Luis Jorge; GUTIÉRREZ-DÍAZ, Miguel Angel; CORREA, Dolores; LUNA-PASTÉN, Héctor y PALMA, José Manuel. Prevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies and the Relation to Risk Factors in Cats of Colima, Mexico.” *The Journal of Parasitology*. 2007, vol. 93, p. 1527–28.

- GARDNER, I. A.; GREINER, M. y DUBEY, J. P. Statistical evaluation of test accuracy studies for *Toxoplasma gondii* in food animal intermediate hosts. *Zoonoses Public Health*. 2010, vol. 57, n° 1, p. 82-94.

- GOTTELAND, C.; AUBERT, D.; GIBERT, P.; MOINET, M.; KLEIN, F. GAME, Y. VILLENA, I. y GILOT-FROMONT, E. Toxoplasmosis in Natural Populations of Ungulates in France: Prevalence and Spatiotemporal Variations. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 2014, vol. 14, n° 6, p. 403-413.

- GRANDÍA, R., ENTRENA, A., y CRUZ, J. Toxoplasmosis en *Felis catus*: Etiología , Epidemiología y Enfermedad. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*. 2013, vol. 24, n°2, p. 131–149.

- HEDMAN, K.; LAPPALAINEN, M.; SEPPAIA, I. y MAKELA, O. Recent Primary *Toxoplasma* Infection Indicated by a Low Avidity of Specific IgG. *The Journal of Infectious Diseases*. 1989, vol. 159, n°4, p. 736–740.

- HILL, Dolores E; CHIRUKANDOTH, Sreekumar y DUBEY, Jitender P. Biology and Epidemiology of *Toxoplasma gondii* in Man and Animals. *Animal Health Research Reviews*. 2005, vol. 6, n°1, p. 41–61.

- HONG, S.; JEONG, Y.; KIM, J.; CHO, S.; LEE, W. y LEE, S. Prevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Household Cats in Korea and Risk Factors. *Korean J Parasitol*. 2013, vol. 51, n°3, p. 357–361.

- HOUSE, P. K.; VYAS, A. y SAPOLSKY, R. Predator Cat Odors Activate Sexual Arousal Pathways in Brains of *Toxoplasma gondii* Infected Rats. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, n°8, p. 8–11.
- HOTEZ, Peter. *Forgotten People Forgotten Diseases: The Neglected Tropical Diseases And Their Impact on Global Health and Development*. 2^{da} ed. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 2013, 215 p. ISBN. 978-1555814403.
- HOWE, D. K. Y SIBLEY, L. D. *Toxoplasma gondii* Comprises Three Clonal Lineages: Correlation of Parasite Genotype with Human Disease. *Journal of Infectious Diseases*. 1995, vol. 172, n° 6, p. 1561.1566.
- JONES, J. L. y DUBEY, J. P. Experimental Parasitology Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. *Experimental Parasitology* 2010, vol. 124, n°1, p. 10–25.
- KHAN, A.; DUBEY, J. P.; SU, C.; AJIOKA, J. W.; ROSENTHAL, B. M. Y SIBLEY, L. D. Genetic analyses of atypical *Toxoplasma gondii* reveal a fourth clonal lineage in North America. *International Journal of Parasitology*. 2011, vol. 41, n° 6, p. 645-655.
- KIJLSTRA, Aize y JONGERT, Erik. Control of the Risk of Human Toxoplasmosis Transmitted by Meat. *International Journal for Parasitology*. 2008, vol. 38, p. 1359–70.
- LAPPIN, M. R.; GREENE, C. E.; PRESTWOOD, A. K.; DAWE, D. L. y MARKS, A. Prevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Cats in Georgia using Enzyme-linked Immunosorbent Assays for IgM, IgG, and Antigens. *Veterinary Parasitology*. 1989, vol. 33, p. 225–230.
- LAPPALAINEN, M.; KOSKELA, P.; AMMALA, P.; HIILESMAA, V.; TERAMO, K.; RAIVIO, K. O. y HEDMAN, K. Toxoplasmosis Acquired during Pregnancy : Improved Serodiagnosis Based on Avidity of IgG. *The Journal of Infectious Diseases*. 1993, vol. 167, p. 691–697.

- LILLY, Emily L. y WORTHAM, Caroline D. High Prevalence of *Toxoplasma gondii* Oocyst Shedding in Stray and Pet Cats (*Felis catus*) in Virginia, United States. *Parasites & Vectors*. 2013, vol. 6, n°1. p. 266.
- LIU, Q.; WANG, Z. D.; HUANG, S. Y. y ZHU, X. Q. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasites & Vectors*. 2015, vol. 8, p. 292
- LOPES, Ana Patrícia; CARDOSO, Luís y RODRIGUES, Manuela. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. *Veterinary Parasitology*. 2008, vol. 155, p. 184–189.
- MAGUIÑA C.; ALVAREZ H.; CARCELÉN A.; IRRIVAREN J.; SOTO J.; COK J. y GOTUZZO, E. Toxoplasmosis en Bartonellosis Humana. *Revista Médica Herediana*. 1998, vol. 9, n°3, p. 14–20.
- MARUYAMA, S.; KABEYA, H.; NAKAO, R.; TANAKA, S.; SAKAI, T.; XUAN, X. y MIKAMI, T. Seroprevalence of *Bartonella henselae* , *Toxoplasma gondii* , FIV and FeLV Infections in Domestic Cats in Japan. *Microbiol. Immunol*. 2003, vol. 47, n°2, p. 147–153.
- MIRÓ, G.; MONTOYA, A.; JIMÉNEZ, S.; FRISUELOS, C.; MATEO, M. y FUENTES, I. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. *Veterinary Parasitology*. 2004, vol. 126, p. 249–255.
- MOGOLLON ALMIDON, Miguel Vicente. "Estandarización y evaluación de un ELISA indirecto para la detección de anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii* en población peruana". Asesor: Juan Jiménez. Tesis Título Profesional. UNMSM, EAP Microbiología y Parasitología, Lima, 2016.
- MONTOYA, Jose G. Laboratory Diagnosis of *Toxoplasma gondii* Infection and Toxoplasmosis." *The Journal of Infectious Diseases*. 2002, vol. 185 Suppl : S73–82.

- MUST, K.; HYTONEN, M. K.; ORRO, T.; LOHI, H. y JOKELAINEN, P. *Toxoplasma gondii* seroprevalence varies by cat breed. *PLoS ONE*. 2017, vol. 12, n° 9, p. 1–10.
- MUST, K.; LASSEN, B. y JOKELAINEN, P. Seroprevalence of and Risk Factors for *Toxoplasma gondii* Infection in Cats in Estonia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 2015, vol. 15, n° 10, p. 597–601.
- NÁQUIRA, F.; CORNEJO, A.; NÁQUIRA, C.; VÍLCHEZ, M.; CASTILLO, C. y CÁCERES, I. Estudio Serológico de la Toxoplasmosis en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Tropical de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. 1972, vol. 1, n° 1, p. 28-32.
- NETTO, E.; MUNHOZ, A. D.; ALBUQUERQUE, G. R.; LOPEZ, C. W. G. y FERREIRA, A. M. R. Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) na cidade de Niterói, Rio de Janeiro*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2003, vol. 12, n°4, p. 145–149.
- NUNURA, Juan; VÁSQUEZ, Tania; ENDO, Sergio; SALAZAR, Daniela; RODRIGUEZ, Alejandrina; PEREYRA, Sonia y SOLIS, Hilda. Disseminated toxoplasmosis in an immunocompetent patient from peruvian amazon. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2010, vol. 52, n° 2, p. 107-110.
- OVALLE, Francisca; GARCÍA, Alejandro; THIBAUTH, Jorge y LORCA, Myriam. Frecuencia de anticuerpos anti *Toxoplasma gondii* en gatos de la ciudad de Valdivia, Chile. *Boletín chileno de Parasitología*. 2000, vol. 55, n° 3-4, p. 94-99.
- PAPPAS, Georgios; ROUSSOS, Nikos y FALAGAS, Matthew E. Toxoplasmosis Snapshots: Global Status of *Toxoplasma Gondii* Seroprevalence and Implications for Pregnancy and Congenital Toxoplasmosis.” *International Journal for Parasitology*. 2009, vol. 39, n° 12, p. 1385–94.

- PENA, H. F. J.; GENNARI, S. M.; DUBEY, J. P. y SU, C. Population Structure and Mouse-Virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. *International Journal for Parasitology*. 2008, vol. 38, n° 5, p. 561–69.
- PENA, H. F. J.; SOARES, R. M.; AMAKU, M.; DUBEY, J. P. y GENNARI, S. M. *Toxoplasma gondii* Infection in Cats from Sao Paulo State, Brazil: Seroprevalence, Oocyst Shedding, Isolation in Mice, and Biologic and Molecular Characterization. *Research in Veterinary Science*. 2006, vol. 81, p. 58–67.
- PETERSEN, E. Toxoplasmosis. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. 2007, vol. 12, n° 3, p. 214-23.
- PIASSA, F. R.; ARÁUJO, J. B.; ROSA, R. N.; MATTEI, R. J.; SILVA, R. C; LANGONI, H. SILVA, A. V. Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in certified and non-certified pig breeding farms in the Toledo microregion, PR, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2010, vol. 19, n° 3, p. 152-156.
- PINKERTON, H. y WEINMAN, D. *Toxoplasma* infection in man. *Arch. Pathol.* 1940, vol. 30, p. 374–392.
- PINTO, L. D.; ARAUJO, F. A. P. de; STOBBS, N. S. y MARQUES, S. M. T. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre , RS , Brasil. *Ciência Rural*. 2009, vol. 39, n° 8, p. 2464–2469.
- PITTMAN, K. J. y KNOLL, L. J. Long-term relationships: the complicated interplay between the host and the developmental stages of *Toxoplasma gondii* during acute and chronic infections. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2015, vol. 79, n° 4, p. 387-401.
- PLOEG, M.; ULTEE, T. KIK, M. Disseminated Toxoplasmosis in Black-Footed Penguins (*Spheniscus Demersus*).” *Avian Dis.* 2011, vol. 55, n° 4, p. 701–3.

- RAHBARI, A. H.; KESHAVARZ, H.; SHOJAEI, S.; MOHEBALI, M. y REZAEIAN, M. IgG Avidity ELISA Test for Diagnosis of Acute Toxoplasmosis in Humans. *Korean J Parasitol.* 2012, vol. 50, n° 2, p. 99–102.
- RAJENDRAN, C.; SU, C. y DUBEY, J. P. Molecular genotyping on *Toxoplasma gondii* from Central and South America revealed high diversity within and between populations. *Infection, Genetics and Evolution.* 2012, vol. 12, n°2, p. 359-368.
- RAMÍREZ, Julia; CHÁVEZ, Amanda; CASAS, Eva; ROSADIO, Raúl y FALCÓN, Néstor. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas de comunidades de la provincia de Canchis, Cusco. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú.* 2005, vol. 16, n° 2, p. 169-174.
- REÁTEGUI, Carmen y VELA, Luz. Factores Socioeconómicos-Epidemiológicos Y Su Relación Con La Seroprevalencia De Toxoplasmosis En Gestantes Atendidas En Los Hospitales ‘Felipe Arriola’ Y ‘Cesar Garayar’, Iquitos, Perú, 2009. *Neotropical Helminthology.* 2011, vol. 5, n° 1, p. 31–40.
- ROBERT-GANGNEUX, Florence y DARDÉ, Marie Laure. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews.* 2012, vol. 25, p. 264–96.
- RODRIGUES, J. Y.; ALMEIDA, A. B. P. F.; SORTE, E. C. B.; GASPARETTO, N. D.; CRUZ, F. A. C. S. y SOUSA, V. R. F. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs of riverside communities of Mato Grosso Pantanal, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* 2016, vol. 25, n°4, p. 531-535.
- ROMERO, M.; GENNARI, S.; SOARES, H; DUBEY, J. P.; ZUÑIGA, A. y FERREIRA, F. *Toxoplasma gondii* Antibodies in Wild White-Lipped Peccary (*Tayassu pecari*) From Peru. *Journal of Parasitology.* 2010, vol. 96, n° 6, p. 1232.

- SAAVEDRA, G. M. y ORTEGA, Y. R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in swine from slaughterhouses in Lima, Peru, and Georgia, U. S. A. *Journal of Parasitology*. 2004, vol. 90, n° 4, p. 902-904.
- SEPÚLVEDA-ARIAS, J. C.; GÓMEZ-MARIN, J. E.; BOBIĆ, B.; NARANJO-GALVIS, C. A. y DJURKOVIĆ-DJAKOVIĆ, Olgica. Toxoplasmosis as a Travel Risk. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2014, p. 592–601.
- SHARIF, M.; DARYANI, A.; NASROLAHEI, M. y ZIAPOUR, S. P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats in Sari, northern Iran. *Trop Anim Health Prod*. 2009, vol. 41, n° 2, p. 183–187.
- SMITH, K.E.; ZIMMERMAN, J. J.; PATTON, S.; BERAN, G. W. y HILL, H. T. The epidemiology of toxoplasmosis on Iowa swine farms with an emphasis on the roles of free-living mammals. *Veterinary Parasitology*. 1992, vol. 42, n° 3 - 4, p. 199 - 211.
- SOUSA, K. C. M. de; HERRERA, H. M.; DOMINGOS, I. H.; CAMPOS, J. B. V.; DOS SANTOS, M. C.; NEVES, H. H. y ANDRÉ, M. R. Serological detection of *Toxoplasma gondii*, *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* in cats from an area endemic for leishmaniasis in Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol*. 2014, vol. 23, n° 4, p. 449–455.
- STERKERS, Y.; VARLET-MARIE, E.; CASSAING, S.; BRENIER-PINCHART, M. P.; BRUN, S.; DALLE, F.; DELHAES, L.; FILISETTI, D.; PELLOUX, H.; YEAR, H. y BASTIEN, P. Multicentric Comparative Analytical Performance Study for Molecular Detection of Low Amounts of *Toxoplasma gondii* from Simulated Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010, vol. 48, n° 9, p. 3216–22.
- SUÁREZ, Francisco; FLORES, Wally; CHÁVEZ, Amanda; RIVERA, Hermelinda y HUANCA, Wilfredo. Toxoplasmosis En Alpacas De La Sierra Altoandina. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*. 2004, vol. 15, n° 2, p. 170–73.


- SUARÉZ-ARANDA, F.; Galisteo, A. J.; Hiramoto, R. M.; Cardoso, R.P.; Meireles, L. R.; MIGUEL, O y Andrade, H. F. The Prevalence and Avidity of *Toxoplasma Gondii* IgG Antibodies in Pigs from Brazil and Peru. *Veterinary Parasitology*. 2000, vol. 91 n° 1 - 2, p. 23–32.
- SUKHUMAVASI, W.; BELLOSA, M. L.; LUCIO-FORSTER, A.; LIOTTA, J. L.; LEE, A. C. Y.; PORNMINGMAS, P. y BOWMAN, D. D. Serological survey of *Toxoplasma gondii*, *Dirofilaria immitis* , Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) infections in pet cats in Bangkok and vicinities, Thailand. *Journal of Veterinary Parasitology*. 2012, vol. 188, n° 1–2, p. 25–30.
- SWITAJ, K.; MASTER, A.; SKRZYPCZAK, M. y ZABOROWSKI, P. Recent Trends in Molecular Diagnostics for *Toxoplasma gondii* Infections.” *Clinical Microbiology and Infection*. 2005, vol. 11, n° 3, p. 170–76.
- TANYUKSEL, M.; GUNEY, C.; ARAZ, E.; SARACLI, M. A. y DOGANCI, L. Performance of the Immunoglobulin G Avidity and Enzyme Immunoassay IgG / IgM Screening Tests for Differentiation of the Clinical Spectrum of Toxoplasmosis. *The Journal of Microbiology*. 2004, vol. 42, n° 3, p. 211–215.
- THOMPSON, R. C. Parasite Zoonoses and Wildlife: One Health, Spillover and Human Activity. *International Journal for Parasitology*. 2013, vol. 43, n° 12-13, p. 1079–88.
- TORREY, E. F. y YOLKEN, R. H. *Toxoplasma* oocysts as a public health problem. *Trends in Parasitology*. 2013, vol. 29, n° 8, p. 380-4.
- Van HEEZIK, Yolanda; SMYTH, Amber; ADAMS, Amy y GORDON, Joanna. Do domestic cats impose an unsustainable harvest on urban bird populations? *Biological Conservation*. 2010, vol. 143, n° 1, p. 121-130.

- WAAP, Helga; CARDOSO, Rita; LEITÃO, Alexandre; NUNES, Telmo; VILARES, Anabela; GARGATÉ, Maria João; MEIRELES, José; CORTES, Helder y ÂNGELO, Helena. *In vitro* isolation and seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in stray cats and pigeons in Lisbon, Portugal. *Veterinary Parasitology*. 2012, vol. 187, n° 3-4, p. 542–547.
- WANG, S.; ZHOU, Y.; NIU, J.; XIE, Q.; XIAO, T.; CHEN, Y.; LI, H.; MA, C.; ZHANG, H.; LIU, S. y ZHANG, Z. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats in central China. *Parasite Journal*. 2017, vol. 24, n° 10.
- WEISS, Louis M. y KIM, Kami. *Toxoplasma gondii*. The Model Apicomplexan: Perspectives and Methods. 1^{ra} ed. London, UK: Academic Press, 2007. 777 p. ISBN. 978-0123695420.
- WIENER LABORATORIOS S.A.I.C. Toxotest HAI. Prueba de Hemaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. Rosario, Argentina. 2000.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Research Priorities for Zoonoses and Marginalized Infections - Technical Report of the TDR Disease Reference Group on Zoonoses and Marginalized Infectious Diseases of Poverty. 2012, vol. 971. Ginebra
- WORTH, A. R.; LYMBERG, A. J. y Thompson, R. C. Adaptive host manipulation by *Toxoplasma gondii*: fact or fiction? *Trends in Parasitology*. 2013, vol. 29, n° 4, p. 150 - 155.
- ZAVALA-VELÁSQUEZ, J.; GUZMÁN-MARIN, E; BECERRA-PEREZ, M. y RODRIGUEZ-FELIX, M. E. Toxoplasmosis y aborto en pacientes del Hospital O'Horan de Mérida, Yucatán. *Salud Pública Mex*. 1989, vol. 31, p. 664-668.

- ZUZUNAGA, M.; CHÁVEZ, A.; LI, O y EVARISTO, R. *Toxoplasma gondii* en Vicuñas de la Reserva Nacional de Pampa Galeras. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2006, vol. 17, nº 2, p. 173-177.

11. ANEXO

Anexo 1: Ficha de investigación epidemiológica

 UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS <small>Universidad del Perú, fundada en 1550</small>		Ficha de investigación epidemiológica de <i>Toxoplasma gondii</i> en gatos domésticos de Lima Metropolitana durante los meses de septiembre hasta diciembre de 2017	
Responsable: Gabriel Angel Soto Soto Facultad de Ciencias Biológicas			
FICHA N°		FECHA:	
DATOS DEL DUEÑO			
Nombre:		Teléfono/Correo:	
Distrito:	Localidad:		
DATOS DE LA MASCOTA			
Nombre:			
I. FACTORES DE RIESGO			
1. Sexo	Macho		
	Hembra		
2. Edad	< 1 año		
	Entre 1 y 7 años		
	> 7 años		
3. Raza			
4. Alimentación	Alimento crudo		
	Alimento casero		
	Alimento balanceado		
5. Hábitos de caza	Sí		
	No		
6. Acceso a la calle	Sí		
	No		
II. DATOS ADICIONALES			
¿Se le han administrado vacunas o medicamentos anteriormente? En caso sea afirmativa la respuesta, ¿Cuáles fueron?			
¿Cuánto tiempo lleva como dueño de su mascota?			

Anexo 2: Constancia de aprobación por el Comité de Ética



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CONSTANCIA 024 - 07 - 18

El Presidente del Comité Institucional de Ética para el uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el proyecto de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** por el Comité de Ética.

Título del Proyecto : "Evaluación de cuatro pruebas inmunológicas para un estudio seroepidemiológico de toxoplasmosis en población humana y animal de 3 zonas geográficas de Perú".

Código de inscripción : 102372

Investigadores : Calderón Sánchez, Maritza Mercedes

La aprobación incluyó los documentos finales descritos a continuación:

1. Protocolo de Investigación, versión recibida en 05 de julio del 2018.
2. Consentimiento informado, versión 2.0 de fecha 27 de junio del 2018.

La **APROBACIÓN** considera el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos Científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo investigador y la Confidencialidad de los datos, entre otros.

Cualquier enmienda, desviaciones, eventualidad deberá ser reportada de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada seis meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el **22 de julio del 2019**. Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 23 de julio del 2018.


Dr. Carlos Espinoza Morales
Presidente
Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales



Anexo 3: Proceso de ejecución

3A.1 y 3A.2: Colecta de sueros con la ayuda de un Médico Veterinario en albergue 'Can Martín' de Cieneguilla. Septiembre de 2017.



3B: Pruebas realizadas. ELISA indirecto IgG: 3B.1) Sensibilización con antígeno parasitario de la placa, 3B.2) ELISA indirecto IgG convencional finalizado, 3B.3) ELISA indirecto de avidéz IgG finalizado.

